

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 47

**Action exercée sur quelques
Bactéries et Champignons
par divers antiseptiques organiques
et spécialement par les matières colorantes**

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

**Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)**

présentée et soutenue le VIII - X 1940

PAR

Daniel GARCIA BERNAL

Pharmacien de l'Université de Bogotà
Pharmacien de l'Université de Paris

JURY { MM. LUTZ, *Président*,
BACH, *Professeur*,
VALETTE, *Maitre de Conférences*.

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1940

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 47

**Action exercée sur quelques
Bactéries et Champignons
par divers antiseptiques organiques
et spécialement par les matières colorantes**

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

**Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)**

présentée et soutenue le 8 Novemb. 1940

PAR

Daniel GARCIA BERNAL

Pharmacien de l'Université de Bogot
Pharmacien de l'Université de Paris

JURY { MM. LUTZ, *Président.*
BACH, *Professeur.*
VALETTE, *Maitre de Conférences.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1940

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. ✱,  I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. ✱,  I., Membre de l'Institut.
H. J. LIONNET, *Secrétaire*,  I.

PROFESSEURS

MM. LEBEAU, O. ✱,  I., Membre de l'Institut.	Pharmacie chimique.
GORIS, O. ✱,  I.	Pharmacie galénique.
DAMIENS, O. ✱,  I.	Chimie minérale.
HERISSEY, O. ✱,  I.	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱,  I.	Chimie organique.
LUTZ, ✱,  I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ✱,  I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱,  I.	Zoologie.
DELABY, ✱,  I.	Chimie analytique.
PICON, ✱,  I.	Physique.
MASCRÉ, ✱,  I.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ✱,  I.	Botanique générale.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✱,  I. — GUÉRIN, O. ✱,  I.

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. ✱,  I et DELÉPINE, O. ✱,  I, Membres de l'Institut.
PERROT, C. ✱,  I, COUTIÈRE, O. ✱,  I, BOUGAULT, O. ✱,  I.
et TASSILLY, O. ✱,  I.

MAITRES DE CONFERENCES

FLEURY,  I.	Hydrologie et Hygiène.
BEDEL, ✱,  I.	Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceutiques.
RÉGNIER,  I.	Bactériologie.
CHARONNAT,  I.	Chimie et Pharmacie Chimique.
JANOT,  A.	Pharmacie galénique et Biologie végétale.
VALETTE,  A.	Histoire naturelle.



CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE,  A, trav. pratiques de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER,  A, trav. pratiq. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
PARIS.	Micrographie.
CORRIEZ,  A.	Physique.
GUILLOT.	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.
DAVID, Chargé des travaux pratiques de Microbiologie.	

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER,  A.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE ET DE MA MÈRE

A MES FRÈRES

SAMUEL, LUIS FELIPE ET AMINTA

ET A MES BELLES-SŒURS

MERCEDITAS ET PEPITA DE GARCIA

A MES ONCLES

ADELAIDA GARCIA ET JULIO C. BERNAL

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LOUIS LUTZ

Chevalier de la Légion d'honneur

En témoignage de ma respectueuse reconnaissance et avec mes plus vifs remerciements pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de ma thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JORGE E. CAVELIER

Doyen de la Faculté de Médecine de Bogotá
Fondateur de l'Hôpital de La Samaritana

Hommage de profonde gratitude et d'admiration.

A MON CAMARADE D'ÉTUDES A PARIS

RAMÓN MENDOZA DAZA

A MES AMIS EN GÉNÉRAL

ET EN PARTICULIER A :

M. LE DOCTEUR ALVARO SALCEDO GIL
M. LE DOCTEUR ALFONSO RUEDA HERRERA
M. LE DOCTEUR JORGE E. HELO
M. LE DOCTEUR FERNANDO SCHOONEWOLF
M. R. ACEVEDO

A MES CONFRÈRES

RAFAEL FORERO TOVAR,
ENRIQUE A. NUÑEZ,
ALEJANDRO PARDO R.

Action exercée sur quelques Bactéries et Champignons par divers antiseptiques organiques et spécialement par les matières colorantes

INTRODUCTION

Depuis 1859, date de la découverte par Verguin de la fuchsine, entrevue l'année précédente par Hoffmann, l'industrie des matières colorantes a connu un essor absolument remarquable, essor qui a atteint son apogée à la suite des travaux de Roussin et de Witt sur les colorants azoïques.

Cependant les préoccupations des chimistes étaient, au début, uniquement orientées vers l'obtention de matières utilisables en teinture.

Ce n'est qu'à une époque relativement récente que l'on eut l'idée d'expérimenter, contre certaines affections d'origine microbienne, plusieurs de ces colorants et plus particulièrement ceux appartenant au groupe du tryphénylméthane, aux dérivés de l'acridine et aux phénols nitrés. Quelques médicaments nouveaux sont ainsi entrés, avec des succès divers, dans l'arsenal thérapeutique.

La lutte anticryptogamique dans le domaine de la phytopathologie ne devait pas rester en arrière, aussi bien pour l'immunisation des bois d'œuvre que pour la protection des plantes économiques vivantes contre leurs ennemis végé-

taux. Si un nombre important de matières colorantes n'ont pas donné les satisfactions qu'on était en droit d'espérer, quelques-unes ont fait preuve de qualités évidentes et sont entrées dans la pratique agricole ou industrielle.

Il s'en faut cependant de beaucoup que l'étude des antiseptiques colorants soit terminée et surtout soit définitive. En particulier, les deux disciplines cryptogamique et bactériologique ont fait l'objet de déterminations séparées et poursuivies sans un souci suffisant de comparaison.

Nous n'avons pas la prétention d'avoir comblé cette lacune : il nous eût fallu disposer d'un temps incompatible avec la durée limitée de la mission d'études qu'a bien voulu nous accorder l'Université de la République de Colombie.

Néanmoins, nous croyons n'avoir pas fait un travail inutile en comparant, ce qui n'avait pas encore été fait, le pouvoir inhibiteur de plusieurs des colorants usuels à l'égard de quelques Bactéries très communes et d'un nombre restreint de Champignons filamenteux ou à thalle dissocié.

Aussi bien, au cours de nos essais, avons-nous pu observer, en présence de certains antiseptiques, des déformations considérables du thalle, principalement chez le *Rhizomucor septatus*, ainsi que des formes involutives, non encore signalées, des sporanges et des conidiophores, ce qui ouvre à la tératologie fongique des perspectives de quelque intérêt.

Nous n'entrerons cependant pas dans l'exposé de nos recherches sans avoir témoigné notre reconnaissance à la Faculté de Pharmacie de Paris et à son Doyen M. le Professeur Damiens pour l'accueil bienveillant qui nous y a été réservé.

Il nous est particulièrement agréable d'exprimer ici toute notre admiration et notre reconnaissance à notre Maître, M. le Professeur Louis Lutz, qui nous a inspiré le sujet de cette thèse. Avec bienveillance il accepta de nous guider journellement de ses conseils éclairés dans nos recherches expérimentales.

Il a mis à notre disposition sa science et son dynamisme

constructeur. Nous ne trouvons pas de mots qui puissent traduire toute notre gratitude.

Que MM. les Assistants du Laboratoire de Cryptogamie : Chartier et Dumontet, que MM. Valette, Paris, David, Malmy, Gillet, Bouillot, Mlles Seguin et Pinguet, Chefs des travaux pratiques et Assistants des Laboratoires de 4^e année et du Laboratoire de Micrographie veuillent bien trouver ici l'expression de notre gratitude par leur bienveillante direction au cours de nos études à la Faculté.

Nous devons aussi de cordiaux remerciements à M. le D^r Rousseau, ancien Assistant du Cours de Microbiologie et Cryptogamie de la Faculté, pour les conseils judicieux qu'il nous a donnés pendant l'exécution de notre travail.

Enfin, nous n'aurions garde de passer sous silence S.E. Don Gregorio Obregón, Ministre et M. le D^r Enrique Chaux, Consul général de Colombie à Paris, auprès desquels nous avons constamment trouvé l'accueil le plus empressé et un appui moral dont nous apprécions toute la haute valeur.

Egalement nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie de Bogotá et plus spécialement MM. les Professeurs Jorge Ancízar Sordo et Jorge Emilio Orozco auxquels nous sommes redevable de notre initiation aux sciences pharmacologiques, ce dont nous leur sommes profondément reconnaissant.

M. le Professeur Antonio María Barriga Villalba, de la Faculté de Médecine de Bogotá, nous a toujours témoigné la plus grande bienveillance et nous l'assurons de notre parfaite gratitude.

Nous remercions également MM. les Professeurs Bach et Valette pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de faire partie du Jury de notre Thèse.

PLAN DU TRAVAIL

Nous étudierons successivement au cours de ce travail :

- Souches et milieux de culture.
- Historique.
- Action sur les Bactéries.
- Action sur les Champignons.
- Colorants non vitaux.
- Colorants vitaux.
- Action des dérivés des phénols.

Expériences personnelles :

- Colibacille.
- Bacillus mycoides*.
- Staphylocoque.
- Aspergillus repens*.
- Penicillium luteum*.
- Rhizomucor septatus*.
- Cryptococcus Ludwigii*.

Résumé et tableau synoptique indiquant les limites de développement en présence des antiseptiques étudiés.

Déformations de l'appareil sporangial du *Rhizomucor septatus* obtenues sur différents milieux.

Conclusions.



SOUCHES

Bactéries.

Les souches bactériennes employées sont :

- a) Colibacille ;
- b) *Bacillus mycoides* ;
- c) Staphylocoque.

Toutes ces souches proviennent de l'Institut Pasteur.

Champignons.

Les Champignons sont : *Aspergillus repens*, *Penicillium luteum*, *Rhizomucor septatus*, *Cryptococcus Ludwigii*.

Les souches ont été prises dans la Mycothèque du Laboratoire de Cryptogamie de la Faculté de Pharmacie de Paris.

Chacune de ces souches a été repiquée tous les deux mois, afin de ne pas la laisser vieillir ; les Bactéries, dans le bouillon peptoné salé et les Champignons sur carotte.

MILIEUX DE CULTURES

a) Pour les Bactéries :

Bouillon peptoné salé de pH = 7,4.

b) Pour les Champignons :

Milieu de Sabouraud liquide de pH = 7,4.

Aussi bien pour les Bactéries que pour les Champignons, nous avons employé le milieu solide de Sabouraud (gélifié) avec les antiseptiques insolubles dans l'eau et solubles dans l'alcool à 90°, leur pH étant également ajusté à 7,4.

c) Les antiseptiques solubles dans l'eau ont été dissous dans l'eau distillée stérilisée ;

d) Pour faire l'ensemencement des Champignons dans les milieux liquides, nous avons fait une suspension de spores dans l'eau distillée stérilisée ;

e) Pour les antiseptiques insolubles dans l'eau, nous avons employé l'alcool à 90° et ces solutions ont été ajoutées au milieu solide de Sabouraud ;

f) La préparation des milieux a été effectuée de la façon suivante :

Tubes d'essais avec le milieu :

Bouillon peptoné salé ou Sabouraud liquide ou gélosé, 4,5 cm³.

	Témoin	Sol. 1/100			Sol. 1/1.000			Sol. 1/10.000		
		0	0,50	0,25	0,10	0,05	0,25	0,10	0,05	0,25
Antiseptique.	0	0,50	0,25	0,10	0,05	0,05	0,25	0,10	0,05	0,25
Bouillon ou Sabouraud gélosé	5	0	0,25	0,40	0,45	0,45	0,25	0,40	0,45	0,25
Culture (gouttes).	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Taux de dilution.	1	1.000	1.2.000	1.5.000	1 10.000	1 20.000	1 50.000	1 100.000	1 200.000	1 500.000

HISTORIQUE

Action sur les Bactéries.

Les premières observations concernant le pouvoir antiseptique des couleurs d'aniline vis-à-vis des Bactéries sont dues à Churchmann, Eisenberg, Oberstadt, Krumwiedt, Fielder, Watsson. Elles ont montré l'action antigénétique remarquable exercée sur certains microbes par le violet benzylé, le violet hexaméthylé cristallisé, le vert brillant et le bleu de méthylène.

En ce qui concerne les dérivés des phénols, Hammerl, puis Fränkel montrèrent que les crésols ont un pouvoir désinfectant supérieur à celui des phénols ; Koch et Lübbert déterminèrent expérimentalement la haute valeur du thymol ; enfin Ehrlich et Bechhold constatèrent que l'introduction des halogènes et d'un radical alkyl dans le noyau benzénique accentue le pouvoir désinfectant des phénols à l'égard du Bacille diphtérique.

Tilley, Mac Donald et Schaffer, se basant sur la solubilité dans l'eau, en présence de certains savons, de la soude ou de la chaux, de l'orthophénylphénol essayèrent l'action de ces solutions sur le Bacille tuberculeux. Ils virent qu'après 2 minutes de contact le Bacille est détruit par une solution à 1/200 en présence de savon à 1 %. La même solution en présence de savon à 1/20 est sans effet. Une solution à 1/100, en présence de savon de coco à 1/200 ou de soude ou de chaux en quantité juste suffisante pour assurer la neutralité du milieu, tue le Bacille en 30 minutes. L'efficacité

de la solution à 1/600 en présence de savon à 1/300 est irrégulière.

Néanmoins les travaux sur le pouvoir bactéricide des matières colorantes ne devaient se multiplier qu'au cours de la guerre de 1914-1918 à l'occasion du traitement des plaies de guerre. C'est surtout en Angleterre que furent poursuivis les premiers essais sérieux dans cette voie.

Browning et plusieurs de ses collaborateurs et Ligat étudièrent notamment le cristal violet (dérivé du triaminotriphénylméthane) qui s'est montré particulièrement actif à l'égard du Staphylocoque et le vert brillant (dérivé du diaminotriphénylméthane).

Ils expérimentèrent aussi la flavine ou trypaflavine (chlorure de 3.6 diamino-10 méthylacridine) qui se montre, à l'opposé de tous les antiseptiques courants, plus active en présence de sérum que dans les milieux aqueux. Il est, dans ces conditions, l'antiseptique le plus actif vis-à-vis des Staphylocoques, du bacille Coli, des Entérocoques et de certains anaérobies, tels que le *Bacillus œdematis maligni*.

Le Rivanol (lactate de 2. éthoxy-6.9.diaminoacridine) a fait aussi l'objet de quelques recherches concernant son pouvoir bactéricide à l'égard des Streptocoques et des Staphylocoques. Lew, par exemple, l'a appliqué au traitement de la mastite chronique de la Vache, sous forme d'injections intraveineuses en solution à 1/1.000. Après une seule injection les microbes pyogènes disparurent du lait dans un laps de temps compris entre 3 et 55 jours et leur développement fut complètement arrêté en 15-33 jours, même dans les cas les plus graves, à la suite d'injections répétées.

Le vert brillant et les corps du groupe de la flavine semblaient d'autant plus intéressants que leur toxicité vis-à-vis des cellules animales s'était toujours montrée très faible, mais le succès de leur emploi s'est révélé assez mitigé, leur utilisation ne s'est pas généralisée et il semble à l'heure actuelle que la tripaflavine soit surtout réservée au traite-

ment de certaines affections à trypanosomes, ^{et de} ~~telles que~~ la Fièvre de Malte (1).

Une étude plus poussée dans le sens biologique est due à Bridré. En additionnant du bouillon peptoné de quantités variables d'une solution à 1/1.000 de diverses matières colorantes et en ensemençant ensuite certains microbes pathogènes, cet auteur a constaté que le Staphylocoque (Microcoque de Nocard) ne pousse pas dans le bleu de méthylène à 1/30.000, le violet benzylé à 1.500.000, le violet hexaméthylé et le vert brillant à 1/1'000.000. Le Bacille de Preisz Nocard ne donne pas de culture dans le bleu de méthylène à 1/30.000, le violet benzylé et le vert brillant à 1/1'000.000 et le violet hexaméthylé à 1/4'000.000. Enfin le Bacille diphtérique ne se développe pas dans le violet benzylé à 1/500.000, le vert brillant à 1/1'000.000 et le violet hexaméthylé à 1/5'000.000.

Dans un bouillon additionné de sérum (bouillon 8, sérum 2), l'action antigénétique des couleurs est moindre : 1/200.000 de violet hexaméthylé pour le Bacille diphtérique et 1/1'000.000 pour le Staphylocoque.

Citons encore, parmi les travaux relatifs aux colorants employés comme antiseptiques, les observations de Burke et de Skinner sur le violet de gentiane. Les spores du *Bacillus anthracis* et du *Bacillus subtilis* résistent à l'action d'une solution saturée de violet de gentiane pendant 24 heures à 37° et pendant 10 minutes à 80°, tandis que les bacilles eux-mêmes sont très sensibles à cette couleur.

B. Wiesner examine l'action du cristal violet sur la Bactéridie charbonneuse. Il montre que l'addition de 1/2'500.000 de ce colorant à un milieu de culture suffit pour empêcher le développement de la Bactéridie. Si, d'autre part, on ajoute à 5 cm³ d'une émulsion de culture sur gélose 5 cm³

1. On trouvera au sujet des dérivés de l'acridine une abondante bibliographie médicale dans les volumes successifs de la *Revue des Progrès thérapeutiques* éditée par la maison Bayer.

de solution de cristal violet à des titres divers (1/400 à 1/20.000) et, qu'après deux heures de contact, on ensemence sur milieu de Süpfle (bouillon glucosé à 3% + 5% de sérum de cheval chauffé), la culture reste stérile pour les mélanges à 1/40.000 de cristal violet.

Mais si on centrifuge le mélange et qu'on dilue le culot dans de l'eau, on peut réaliser, par son emploi, des cultures à la concentration de 1/16.000. De plus, inoculés à la souris, les mélanges ont conservé la même virulence que l'émulsion témoin.

Nous signalerons également un travail de Risler et Philibert qui, étudiant l'action microbicide des rayonnements lumineux de grande longueur d'onde, virent qu'en sensibilisant les cultures par addition de colorant, tel que le violet de méthyle, on accentue l'action mortelle des rayonnements.

Dans le sang normal, soumis à l'action des rayons lumineux correspondant au spectre d'absorption de l'hémoglobine, des bactéries telles que le Bacille diphtérique, le Coli-bacille et le Streptocoque ne sont pas affectés et le Staphylocoque ne l'est pas complètement. Mais si l'on sensibilise le sang défibriné par 1 goutte de violet de méthyle à 1/10.000 pour 10 cm³ de sang, on obtient presque instantanément la lyse microbienne.

Plusieurs colorants ont été expérimentés dans le traitement des lésions lépreuses.

Ryrie dit avoir obtenu de bons résultats par un traitement à la fluorescéine. Celle-ci est moins toxique que le mercuro-chrome (qui appartient au même groupe de colorants) et elle serait aussi active à condition d'utiliser des solutions récentes en injections intra-veineuses.

Emetson et Anderson, après avoir déterminé les doses mortelles de certaines couleurs proposées pour le traitement de cette maladie, constatent que le triphénylméthane et le bleu de méthylène sont plus beaucoup bactéricides pour le bacille de la lèpre que les couleurs dérivées de la

phthaléine et que le trypan bleu. Chez les rats lépreux, seule le mercuro-chrome s'est montré actif.

Enfin il existe des couples renforçant réciproquement leur action: ex.: barbiturates et trypan bleu; cupro-tartrate de potassium et éosine.

Divers autres auteurs ont essayé l'action de matières colorantes dans le traitement de la Lèpre. Ne pouvant les passer tous en revue, nous nous bornerons à citer les principaux.

Berny constate qu'un séjour de 24 heures « in vitro » dans le bleu de méthylène à 0.5 % n'atténue pas la virulence du bacille de Stéfansky.

Marchoux et Chorine remarquent que le bacille de la Lèpre fixe le bleu de méthylène dans les parties du corps éclairées par la lumière.

Montel et Truong-Van-Que emploient le rouge neutre auquel ils attribuent les mêmes propriétés qu'au bleu de méthylène, quoique avec une activité diminuée. Cependant, injecté avant le bleu, il semble renforcer l'action de ce dernier.

Leggate utilise avec de bons résultats le bleu de Bonney, (solution de vert brillant 0.50, cristal violet 0.50, alcool absolu 25 cm³, eau distillée 2.500 cm³).

Muir et Chaterji préconisent dans le traitement des lésions oculaires de la lèpre le trypan bleu à 0.1% en instillations sous-conjonctivales ou en injections intraveineuses à 1%.

Accoutumance. — Il peut se produire quelques phénomènes d'accoutumance lorsqu'on cultive certains Bactéries en présence d'antiseptiques colorants, de même qu'on en a vu s'habituer au contact de doses infertilisantes d'antiseptiques minéraux.

C'est ainsi que Jungeblut, opérant sur le Bacille typhique, le Bacille de Shiga, le Vibron cholérique, le Streptocoque, le Pneumocoque et le Staphylocoque en présence de Riva-

nol (1), de trypaflavine ou de bleu de méthylène, a noté une accoutumance rapide et facile du Streptocoque hémolytique vis-à-vis de la trypaflavine, et une adaptation plus difficile au Rivanol ; la sensibilité, dans ce cas, ne diminuant que 4 fois après 60 passages.

Burke et Skinner ont également réussi à accoutumer la Bactéridie charbonneuse à des solutions de violet de gentiane susceptibles de les tuer dans les conditions normales. Ils ont ainsi créé des races résistantes.

Mercurio-chrome. — Nous devons enfin une mention au mercurio-chrome dont on a tenté l'introduction dans la thérapeutique contre certaines affections microbiennes.

Colebrook et Hare ont étudié le pouvoir antiseptique de ce produit en additionnant *in vitro* du sang humain défibriné de doses variables de mercurio-chrome et en l'enseménçant avec la bactérie choisie.

Ils constatèrent que le mercurio-chrome ne confère ni au sérum, ni au sang total, de pouvoir bactéricide à l'égard du Staphylocoque et du Streptocoque hémolytique.

Bien plus, le pouvoir bactéricide normal du sang vis-à-vis du Staphylocoque est complètement enrayé par l'addition de 1/10.000 de ce produit.

Le sérum provenant de sujets traités par ce médicament n'a aucun pouvoir bactéricide pour le Staphylocoque et le Streptocoque hémolytique.

Enfin, la bile du Lapin, traitée par une forte dose de mercurio-chrome (5 milligr. par kil.), n'a aucune action sur le Bacille typhique, et le pouvoir bactéricide normal du sérum de ces animaux n'est pas accru par l'injection de ce sel.

Dérivés sulfaminés. — Dans ce groupe se rangent le Prontosil, chlorhydrate de 4. sulfamide. 2.4 diamino-benzol

1. Lactate de 2. éthoxy .6.9. diamino-acridine.

ou sulfamido-chrysoïdine, découvert en 1932 par Mietsch et Klarer et son similaire français, le Rubiazol.

Le Prontosil a été lancé dans ces dernières années par la maison Bayer contre les affections Staphylococciques, Streptococciques et Colibacillaires.

Domagk, Klee et Römer, Tuge, Schrens ont annoncé successivement son action favorable dans les septicémies streptococciques, notamment dans la septicémie puerpérale et dans l'érysipèle.

Levaditi et Vaisman ont expérimenté le Rubiazol. Ils ont constaté que ce corps n'exerce sur le Streptocoque aucune action bactéricide *in vitro* et que son action dans l'organisme ne peut être qu'une exaltation de la phagocytose. Cette activité est d'ailleurs éminemment spécifique.

Nitti et Bovet ont obtenu des résultats encore moins probants.

Mêmes résultats négatifs dans le traitement de la lymphadénite hémolytique streptococcique du Cobaye (Habs et Roeper) par injections intra-péritonéales de Prontosil soluble.

Par contre, le Prontosil aurait donné de bons résultats dans la gourme du Cheval (Edmond), dans les infections des voies urinaires, par exemple, dans la pyurie infantile (Huber), dans la cystite (Klose), dans la méningite streptococcique (Proom et Buttle), la méningococcie (Schwent-Ker, Gelman et Long), dans le lupus (par pansements à l'aide d'une solution alcoolico-cétonique) (Jaeger), voire même dans la fièvre typhoïde (Schmidt), etc.

Nous ne pouvons prétendre donner ici une bibliographie médicale complète de cette question, ce qui dépasserait beaucoup le cadre de notre travail. Nous renverrons le lecteur aux derniers volumes de la *Revue des Progrès thérapeutiques*, éditée par la maison Bayer de Leverkusen.

Signalons cependant que le Prontosil a été également préconisé pour le traitement de la malaria, mais les observations de Chopra et Basu et celles de Niven ont montré

que ce corps ne détruit pas les gamétocytes et se montre moins efficace que la quinine contre le *Plasmodium falciparum* et surtout contre le *P. vivax* et le *P. malarix*.

Les opinions sont très partagées au sujet du mode d'action dans l'organisme du Prontosil et des colorants voisins.

Colebrook, Buttle et O'Meara, Nitti et Bovet, J. et Mme Tréfouel supposent que ces corps libèrent dans l'organisme de l'amino-phénylsulfamide qui exercerait une action directe sur les Streptocoques, mais sans en donner de démonstration péremptoire. Cette opinion est d'ailleurs contestée par d'autres auteurs, tels que Burgers, qui pense que le Prontosil et les corps voisins diminuent seulement le pouvoir toxigène du Streptocoque et qu'ils agiraient surtout en stimulant les processus de défense de l'organisme.

La question reste donc, à ce point de vue, entière.

Chloropicrine. — Violle a mis en lumière les propriétés désinfectantes de la chloropicrine, soit comme préventif, soit comme agent stérilisant.

Il a montré qu'à la dose de 12 milligrammes par litre de bouillon, ce corps empêche le développement de tous les microbes non sporulés, et entre autres du Bacille Coli, du Bacille typhique, des Bacilles paratyphiques, du Staphylocoque et du Streptocoque.

Une dose double empêche la prolifération des bactéries sporulées (*Bacillus subtilis*).

Comme agent stérilisant, la chloropicrine détruit en 30 minutes les émulsions des bacilles fragiles (B. Coli, B. typhique, B. dysentérique, Proteus, B. pyocyanique). Les cocci (Staphylocoque, Streptocoque) sont tués après une heure de contact et les microbes sporulés (*B. subtilis*, etc.) après 4 heures.

Ces résultats ont été confirmés par les expériences de Gabriel Bertrand sur les ferments lactiques et ammoniacaux et sur la Bactérie du Sorbose.

II. — Action sur les Champignons.

Colorants non vitaux.

On doit à Truffaut et Pastac une intéressante contribution à l'étude de l'action toxique exercée par certains colorants organiques sur les Champignons.

Ils remarquèrent que leurs solutions, à condition que ce soient des colorants non vitaux, détruisent le protoplasma des Champignons parasites et les tuent en les teignant, à la condition, cependant, d'adhérer aux hyphes et de les pénétrer. Toutefois lorsqu'il y a floculation du colorant, celui-ci cesse d'être actif.

Les expériences de Truffaut et Pastac sont de deux sortes : les unes *in vitro*, d'autres sur des plantes parasitées.

In vitro, elles comportent l'ensemencement du Champignon sur du liquide de Raulin gélosé additionné de doses variables du colorant à étudier, en comparant le développement avec celui de témoins sans colorant.

Les espèces, choisies parmi les plus résistantes aux agents chimiques, sont le *Rhizopus nigricans* et le *Penicillium glaucum*. Sur les plantes parasitées, les solutions colorantes appliquées directement se montrent en général inefficaces, leur tension superficielle étant trop élevée, ce qui empêche leur adhérence convenable aux organes traités.

Habituellement, pour le traitement par les anticryptogamiques des plantes difficilement mouillables, on associe à la substance active ce que l'on désigne sous le nom global de mouillants, c'est-à-dire des solutions de savons, de sulfo-ricinates, de mélasses, etc. De telles associations se montrent presque toujours inapplicables avec les colorants organiques, ceux-ci étant trop sensibles aux actions chimiques résultant de l'action du mouillant.

Il faut dès lors recourir à des substances abaissant la tension superficielle des solutions et choisies parmi les adhé-

sifs récemment introduits sous des noms de fantaisie dans l'industrie chimique. Les auteurs citent notamment : la brecolane, l'encarnite, la florhanine, l'hélium, l'iporite, le léonyl, le nékal, la néomerpine, le nilo, etc. Les résultats de ces expériences peuvent se résumer de la manière suivante :

Certains colorants inoffensifs pour les animaux supérieurs, tels que le tétraméthyl-diamino-triphényl-chlorométhane (vert solide, vert diamant, vert malachite) entravent tout développement du *Rhizopus* et du *Penicillium* jusqu'à une dilution de 1/25.000.

Dans la nature, les essais ont été faits par pulvérisation sur des cultures en plein air de Rosiers parasités par le *Sphaerotheca pannosa*, de Pois attaqués par l'*Erysiphe Polygoni*, et de Chênes envahis par le Blanc (*Microsphaera quercina*). Les colorants les plus variés ont été utilisés ; certains ont provoqué des brûlures sur les parties saines des feuilles, par ex. l'hexaméthyl-triamino-phényl-chlorométhane (pyoc-tanin bleu, violet cristallisé, etc.). D'autres, tels que le tétraméthyl-diphényl-méthylène-imino-hydro-chloré (pyoc-tanin doré, auramine) tuent les parasites en ne déterminant aucune lésion sur la plante-hôte.

Le Mildiou (*Plasmopora viticola*) se montre moins résistant aux colorants organiques que les divers Blancs et que le *Rhizopus* et le *Penicillium*. C'est ainsi que l'auramine qui, vis-à-vis du *Rhizopus*, s'est montré à peine efficace à 1/1.000 détruit le *Penicillium* à 1/3.000.

L'*Erysiphe Tuckeri* (Oïdium de la Vigne) est également détruit dès le premier traitement, aussi bien sur les raisins que sur les feuilles.

La carie du blé (*Tilletia tritici*) a pu être combattue avec le même succès par immersion pendant deux heures des grains de Blé dans des solutions colorantes rendues mouillantes : les spores du parasite ont été tuées, sans que les facultés germinatives de la Céréale aient été altérées.

D'une manière générale, le premier traitement appliqué aux plantes détruit le conidiophore, les conidies et le

mycélium teint, même à l'intérieur des tissus parasités. Les parties non parasitées ne prennent pas le colorant.

Lorsque la virulence du parasite est grande, on voit, quelques jours après le traitement, apparaître, à la périphérie des taches, de nouveaux conidiophores, non colorés. Il faut alors appliquer un second traitement qui, cette fois, est définitivement curatif.

Acanfori a, de son côté, examiné l'action de diverses matières colorantes sur plusieurs *Blastomycoides* (*B. Tularensis*, *B. immitis*, *B. triangularis*, *B. longinoscis*, *B. 8*, espèce incertaine à caractères de *Monilia*). Les cultures étaient faites dans de l'eau peptonée-glucosée additionnée de dilutions de colorant comprises entre 1 500 et 1,20.000. L'auteur classe en 4 groupes les 12 substances colorantes employées :

- 1° Substances très actives : cristal violet, vert malachite, trypaflavine ;
- 2° Substances peu actives : vert de méthyle, vert brillant, cristal bleu, pyronine ;
- 3° Substances peu actives dont l'effet varie selon les souches des Champignons : méthyl-orange, rouge Congo, trypan bleu, thionine, bleu de toluidine.
- 4° Substance complètement inactive : bleu à l'eau.

Colorants vitaux.

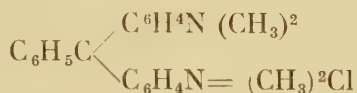
Dans un travail consacré surtout à l'action des anti-oxygènes sur le développement du *Sterigmatocystis nigra*, Bonnet et Jacquot, utilisant comme milieu de culture du liquide de Czapeck à 3 % de glucose et 0,5 % de sulfate d'ammoniaque, à la température de 37°, font néanmoins une place au bleu de méthylène.

Ils constatent qu'à des doses variant entre 0,005 et 0,600 la vitesse de développement du Champignon est normale. Jusqu'à 0 gr. 40 le rendement énergétique est même supérieur à celui du glucose (0 gr. 64 pour une concentration de

0 gr. 05). A la concentration de 0 gr. 60, le rendement diminue et tombe à 0 gr. 54.

La question des colorants vitaux a encore fait l'objet de quelques rares observations.

Parmi les premiers en date, on peut signaler les essais de Leonian qui met en évidence la haute action fongicide du vert malachite.



sur un assez grand nombre de *Fusarium*, à la dose de 1/500.000, sur le *Phytophthora Colocasiæ* à 1/16'000.000 et sur le *Phytophthora omnivora* à 1/2'000.000.

Vers la même époque, Guiyot signale que le bleu de méthylène à la dose de 1/500.000 empêche le développement des rhizomorphes de l'*Armillariella mellea*.

Dessy étudie le pouvoir inhibiteur et le pouvoir bactéricide de 51 substances colorantes et de 22 sels métalliques sur les Champignons du genre *Mucor* (*M. roseum*, *M. mucedo* et *M. pusillus*).

Parmi les substances colorantes, le violet de méthyle est actif entre 1/20.000 et 1/5.000, le vert brillant à 1/40.000, le vert malachite à 1/40.000, le cristal violet de 1/10.000 à 1/500, le violet de gentiane de 1/10.000 à 1/2.000, le violet Dahlia de 1/5.000 à 1/500, le violet de méthylène de 1/10.000 à 1/500.

A l'exception du vert malachite, toutes ces substances présentent un pouvoir bactéricide assez prononcé.

Vanderwalle attribue aux mêmes substances un pouvoir analogue à l'égard du *Botrytis cinerea* à 1/10.000.

Enfin, Guilliermond a examiné le comportement d'un *Saprolegnia* dans des milieux de culture additionnés de faibles doses de quelques-uns de ces colorants. A une température de 25°, les cultures additionnées de 1 à 5 mgr. % de rouge neutre fournissent un développement sensible-

ment normal, mais avec un mycélium qui apparaît macroscopiquement coloré en rouge.

Au-dessus de 6 milligrammes % et jusqu'à 2 centigr. % environ, la croissance se ralentit et au delà de cette concentration, le Champignon ne s'accroît plus que d'une manière minime. Il reste vivant jusqu'à une dose de 5 à 6 centigr. %, mais à partir de 4 centigr. son développement est insignifiant.

Jusqu'à 0,01 %, le vacuome est tout à fait analogue à celui qu'on observe par la coloration vitale sous le microscope : il apparaît dans les extrémités des filaments sous forme de minces canalicules anastomosés en réseau et assez uniformément colorés. Dans les parties âgées, ces canalicules confluent et constituent un canal vacuolaire unique occupant tout le centre du filament.

Au-dessus de 0,01 % le vacuome s'hypertrophie considérablement, ses formes réticulaires sont plus compliquées et le canal vacuolaire central beaucoup plus large. Mais la coloration reste toujours strictement localisée au vacuome.

Parmi les autres colorants du vacuome, le bleu de toluidine est, après le rouge neutre, le moins toxique. Il permet d'obtenir un léger développement jusqu'à 0 gr. 054 %.

Le bleu de crésyl se montre infertilisant à 0,007 %, le bleu de méthylène et le bleu nil à 0,006 %.

Guilliermond a également expérimenté trois colorants vitaux du chondriome : le vert Janus, le violet Dahlia et le violet de méthyle. Tous ont fait preuve d'une grande toxicité.

Dans un important travail consacré à la biologie du *Ceratostomella Ulmi* (Schwartz) Buisman, agent de la maladie de l'Orme, Boudru, au cours d'essais préliminaires tendant à déterminer les phénomènes d'oxydo-réduction provoqués par ce parasite et utilisant un certain nombre d'indicateurs colorés du pH, remarque qu'au bout de 60 jours, le vert Janus, à la dose de 20 cc. d'une solution à 1/1.000 cm³ du milieu et à tous les pH étudiés, inhibe la

croissance du Champignon. Il en est de même du bleu de méthylène à la même concentration et pour un pH de 7.2.

Partant de là, Boudru institue une longue série de déterminations portant sur 42 matières colorantes et qu'il ajoute à un milieu nutritif gélosé de base dans les proportions de 1/1.000, 1/2.000, 1/5.000, 1/10.000, 1/20.000, 1/50.000, 1/100.000, 1/250.000, 1/500.000, 1/1'000.000, 1/2'000.000 et 1/4'000.000. Les tubes de culture, après stérilisation, sontensemencés avec une émulsion de spores de *Ceratostomella* et mis en incubation pendant 15 jours.

Les matières colorantes se sont classées par ordre d'efficacité de la manière suivante :

- 1° à 1/2'000.000 : Vert malachite.
- 2° à 1/250.000 : Vert brillant, vert Janus, vert d'aniline.
- 3° à 1/100.000 : Rouge de méthyle.
- 4° à 1/50.000 : Violet de méthyle, cristal violet, violet de gentiane.
- 5° à 1/20.000 : Violet Dahlia.
- 6° à 1/10.000 : Erythrosine, rouge d'aniline, jaune citron d'aniline.
- 7° à 1/5.000 : Vert de méthyle, bleu de naphtylène, violet de méthylaniline, vert d'iode, violet de Hoffmann, bleu de fuchsine, sulfate de rosaniline, bleu nil.
- 8° à 1/2.000 : Bleu de méthyle, vésuvine, bleu de méthylène, jaune orange d'aniline.
- 9° à 1/1.000 : Violet de méthylène, bleu de toluidine, violet d'aniline
- 10° N'ont aucune action à 1/1.000. Vert Lumière, Vert acide (Grübler), bleu d'aniline, bleu de crésyl, rouge Congo, rouge neutre, carmin d'indigo, gaïacol, méthyl-orange, rouge de phénol, bleu de thymol, bleu de bromo-phénol, pourpre de bromocrésol, bleu de bromothymol, rouge de crésol.

III. — Action des dérivés des phénols.

On connaît depuis fort longtemps les propriétés antiseptiques des phénols. Utilisés d'abord dans la médecine humaine et vétérinaire comme désinfectants, ils ont fait par la suite l'objet de nombreuses applications dans la lutte contre les Champignons, mais c'est surtout dans le domaine de la préservation des bois qu'ils ont trouvé leurs applications industrielles les plus importantes.

Dans cet ordre d'idées, c'est principalement sur les dérivés nitrés des phénols, qui sont en même temps des colorants puissants, que s'est portée l'attention des chercheurs.

Dès 1892, le dinitrocrésylate de sodium fut proposé pour l'imprégnation du bois (Brev. all. 72.991). Peu après, Malenkovic démontra l'efficacité du dinitrocrésol pour enrayer l'apparition de la Mérule.

Successivement furent brevetés des combinaisons ou des mélanges variés à base de phénols nitrés : dinitrophénol combiné à l'aniline ou à la pyridine, dinitrophénol et fluorure de sodium, dinitrophénol et sels de zinc, dinitrophénol et bichromate de potassium, dinitrophénol et tricrésol, etc.

Quelques années plus tard, Malenkovic (1907) signale le pouvoir hautement antiseptique des phénols à deux groupements nitrogènes et en particulier de l'ortho-dinitro-crésol, ainsi que de sa combinaison avec un sel insoluble de cuivre (Antigermin, nom déposé) et de son sel de potassium (Antinonnin, nom déposé).

Les colorants nitrés.

Une très intéressante étude des colorants nitrés et de leurs applications a été présentée par Pastac aux « Journées de la lutte chimique contre les ennemis des cultures » de Paris 1937. Nous lui empruntons les données générales concernant la composition et les propriétés de ces produits.

Les radicaux pouvant être liés au noyau aromatique se rangent en deux catégories :

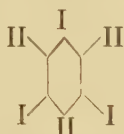
I. — Radicaux basiques :



II. — Radicaux acides :

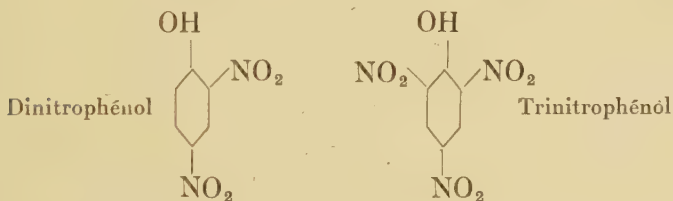


Dans les conditions normales de travail et quand les radicaux peuvent se fixer librement sur les noyaux, ils occupent des positions alternantes représentées par le schéma :

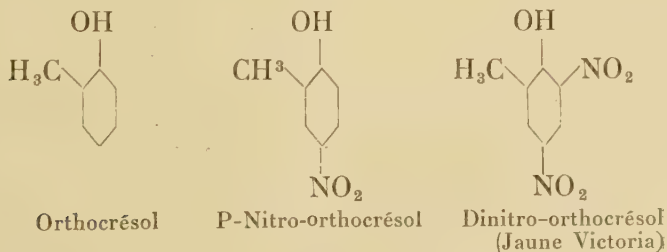


Les formules des colorants obtenus par nitration directe correspondent à cette règle.

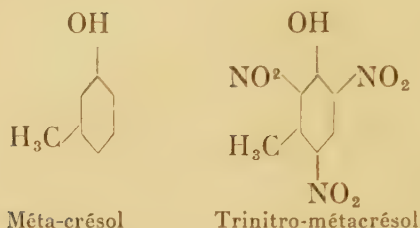
C'est ainsi, par ex. que la nitration du phénol donne les produits suivants :



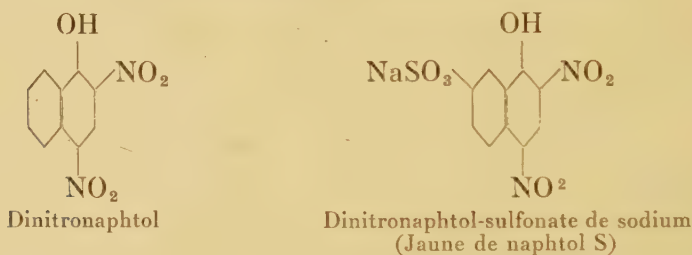
Avec les crésols, la nitration de l'ortho-crésol s'arrête avec la formation du dérivé dinitré, car la 3^e position acide est bloquée par un CH^3 :



Par contre, le métacrésol fournit facilement le dérivé trinitré :

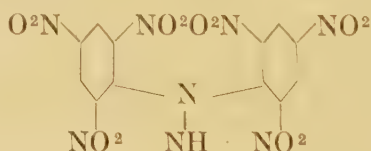


La série du naphthalène donne le dinitronaphtol (Jaune de Martius) et son dérivé sulfoné, le jaune de naphthol S.



Ces deux formules correspondent également à la règle de l'alternance des radicaux.

Mêmes observations en ce qui concerne l'aurantia ou hexa-nitro-diphénylamine :



Une étude systématique de l'action des phénols nitrés sur le *Sterigmatocystis nigra* est due à Plantefol.

Cet auteur utilise les mono-nitrophénols ortho, méta et para, le dinitro-phénol 2-4 et le trinitro-phénol 2-4-6 ajoutés à du liquide de Raulin. Les cultures sont maintenues à + 37°.

Une première série de recherches a pour but la détermi-

nation de la concentration minima empêchant la germination des spores (pouvoir inhibiteur). Les résultats sont les suivants :

	Phénol	O-N-phén.	M-N-phén.	P N-phén.	Di-N-phén.	Tri-N-phén.
Pas de germination...	0.8	> 0.4	0.3	0.12	0.009	0.4
Germination.....	0,7	> 0.4	0.4	0.10	0.008	0.35

(La concentration inhibitrice n'est pas atteinte pour l'ortho-nitro-phénol dissous à saturation dans le milieu nutritif.)

Une seconde série de recherches a pour but la détermination de la concentration maxima permettant le développement des conidies et leur noircissement dans un laps de temps déterminé.

	Temps	Phén.	O-N-phén.	M-N-phén.	P N-phén.	Di-N-phén.	Tri-N-phén.
Début de noircissement...	40 h.	0.1	0.05	0.05	0.01	0.001	0.03
Cultures noires	3 jours	0.4	0.04	0.01	0.02	0.004	0.1
	4 jours	0.5	—	—	0.05	0.005	0.15

Enfin, une dernière série d'essais se propose la détermination du poids des récoltes après 5 jours de culture. Ce poids, qui s'élevait à 1 gr. 61 — 1 gr. 67 pour les témoins, est descendu à 0,74 pour une concentration de 0,6 par litre avec le phénol, à 1 gr. 20 pour 0,4 par litre avec l'orthonitrophénol, à 0 gr. 67 pour 0,2 par litre avec le méta-nitro-phénol, à 0,09 pour 0,1 par litre avec le para-nitro-phénol ; à 0,07 pour 0,007 par litre avec le dinitro-phénol et à 0,32 pour 0,3 par litre avec le tri-nitro-phénol.

Il apparaît ainsi que les phénols nitrés sont beaucoup plus toxiques pour le *Sterigmatocystis* que le phénol lui-même ; que, parmi les trois mono-nitro-phénols, le *para* est le plus toxique et l'*ortho* le moins ; que le dinitro-phénol est de beaucoup le plus toxique des phénols nitrés, son activité étant près de 100 fois supérieure à celle du phénol et 10 fois supérieure à celle des mono-nitro-phénols. Quant

au trinitrophénol, sa toxicité est du même ordre de grandeur que celle des mono-nitro-phénols.

Dans le travail auquel il est fait allusion plus haut, Bonnet et Jacquot déterminent le pouvoir toxique du dinitro-phénol en utilisant le rendement énergétique tel qu'il est défini par la formule de Tangel : $R = \frac{U}{E - V}$, dans laquelle U représente l'énergie totale emmagasinée dans le mycélium, E celle représentée par les aliments à l'état initial (glucose) et V celle demeurée dans le milieu nutritif après expérience.

Ils constatent qu'à une concentration de 0 mgr. 04 % le rendement énergétique est inférieur à celui des témoins sur glucose (0,53). De 0 mgr. 4 à 0 mgr. 20 la vitesse de croissance est notablement diminuée, le poids sec du mycélium obtenu en 48 heures tombe aux environs de 0 gr. 3, le rendement énergétique s'abaissant et se maintenant aux environs de 0 gr. 50. A 0 gr. 4 il y a une légère germination mais la récolte est impossible ; à 0 mgr. 8 il n'y a plus aucun développement.

L'action antiseptique des phénols nitrés a encore été étudiée par Falk, en 1912, sur le *Merulius domesticus*, le *Polyporus vaporarius*, les spores de *Lenzites saepiaria*, le *Coniophora cerebella*, la levure de bière, et le *Penicillium*.

Les corps employés sont le phénol, les mono-, di- et trinitrophénols, mono-, di- et trinitrocrésols et leurs isomères ortho, méta et para, leurs combinaisons sodiques et ammoniques, leurs dérivés mono- et disulfonés et leurs combinaisons sodiques.

Les résultats de ces déterminations confirment les observations de Malenkovic.

Faisant suite à ces travaux, divers auteurs, notamment Pastac ont préconisé pour la protection des plantes contre les agents cryptogamiques les phénols dinitrés, car ce sont eux qui possèdent le plus fort coefficient anticryptogamique :

Phénol.....	1/1.000
Para-nitro-phénol.....	1/10.000
Dinitro-phénol.....	1/60.000
Dinitro-crésol (Jaune Victoria).....	1/60.000
Dinitro-naphtol (Jaune de Martius).....	1/60.000
Trinitro-phénol (Acide picrique).....	1/750
Trinitro-résorcine (Acide styphnique)... 1/1.000	

Associés aux mouillants, certains de ces produits sont maintenant utilisés dans des marques spécialisées.

Chloropicrine.

La chloropicrine, dont la toxicité avait motivé l'emploi au cours de la guerre de 1914-1918, a été expérimentée, non seulement comme insecticide, mais aussi comme anticryptogamique et surtout comme bactéricide.

Dans le domaine anticryptogamique, les premiers essais sont dus à Matruchot et Pierre Sée. Ces auteurs exposent des tubes de culture débouchés dans une atmosphère saturée de vapeurs de chloropicrine. Après des temps variables de contact, la vitalité des cultures est contrôlée par repiquage. Parmi les Champignons étudiés, l'*Hyphomyces ochracea* est tué en 30 minutes, le *Mucor mucedo* et le *Botrytis cinerea* en 3 h. 1/2, les *Nocardia*, *Penicillium* et *Amblyosporium* en 5 et 8 heures.

Dans une atmosphère non saturée, à la dose de 0 gr. 10 par litre d'air, toutes les moisissures sont tuées en 48 heures, à l'exception de l'*Amblyosporium* qui exige une dose double et 42 heures de contact.

Gabriel Bertrand et Mme Rosenblatt étendirent ces notions à une Levure de Champagne, à la Fleur du vin et à l'*Aspergillus niger*. La Levure se montre très sensible : 1 milligramme de chloropicrine dans un litre de moût sucré ralentit sensiblement le processus fermentatif et 5-6 milligrammes l'arrêtent complètement.

Cependant cette dose n'est pas mortelle pour les cellules

de Levure : pour les tuer en 2 heures, à 27°, il faut employer une concentration comprise entre 30 et 40 milligrammes par litre.

Le *Saccharomyces vini* est beaucoup plus sensible, son développement dans le vin rouge étant complètement entravé par 1 milligramme par litre (durée de l'expérience : 6 semaines).

La chloropierine n'a qu'une très faible action inhibitrice sur les diastases de l'*Aspergillus niger* et la sucrase de la Levure.

ANTISEPTIQUES EMPLOYÉS

Les antiseptiques employés sont :

Mercuro-chrome.
Mercure-érythrosine.

Dinitro-crésol.
Dinitro-naphtol.
Jaune de naphtol sulfoacide.
Dinitro-phénol.
Orthonitro-phénol.
Trinitro-phénol.
Jaune de Martius.

Vert brillant.
Vert malachite.
Vert de Janus.
Bleu méthylargyre.
Bleu nil sulfate.
Bleu de toluidine.
Bleu de toluidine-éosine.
Trypan bleu.

Gonacrine.
Rivanol.
Jaune d'acridine.
Exo-septoplix.
Prontosil rubrum.

Flavine.
Thioflavine.
Violet cristallisé.
Violet Dahlia.

Pyronine.
Brillantazurine.
Auramine 00.

Expériences personnelles.

COLIBACILLE

Mercurio-chrome.

Ensemencé le 16 juillet.

3^e jour : pousse à 1/50.000.

5^e jour : même état.

8^e jour : pousse légèrement à 1/20.000.

10^e jour : même état.

23^e jour : il y a un flocon au fond du tube à 1/20.000.

Gonacrine.

Ensemencé le 13 juillet.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

8^e jour : pousse à 1/20.000.

10^e jour : pousse faiblement à 1/50.000.

Rivanol.

Ensemencé le 26 septembre.

3^e jour : pousse à 1/50.000.

5^e jour : pousse à 1/20.000.

8^e jour : même état.

Jaune Victoria.

Ensemencé le 10 février.

3^e jour : pousse à 1/2.000. A 1/20.000, léger changement de coloration : pH = 6,8. — A 1/50.000, très léger changement de coloration (virage vers le rouge orangé) : pH = 7,2.

5^e jour : changement de couleur entre 1/2.000 et 1/20.000 ; plus marqué à 1/2.000 et 1/5.000 : pH = 6,8-7 respectivement (virage au rouge orangé).

Dinitro-naphtol (Sulfoacide).

Ensemencé le 3 octobre (solutions depuis 1/200).

3^e jour : pousse dans toutes les solutions.

8^e jour : rien d'anormal.

Jaune naphtol.

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1 200. Changement de coloration du milieu de
de 1/200 à 1/2.000, moins marqué de 1/5.000 à 1/20.000.

6^e jour : pH de 1/1.000 = 6,6. Il y a tendance à la formation d'un
voile.

8^e, 9^e, 10^e jours : même état.

Auramine 00.

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1/5.000.

6^e, 7^e, 8^e jours : même état.

Mercure-érythrosine.

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1/50.000.

6^e jour : de 1/50.000 à 1/4.000.000, tendance à former voile.

7^e jour : même état.

8^e jour : pousse à 1 20.000, développement à peine sensible.

Vert brillant.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/50.000.

4^e jour : même état.

5^e jour : pousse à 1/20.000.

7^e jour : même état.

Vert malachite.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

4^e, 5^e jours : même état.

Note. — On ne peut pas faire d'ensemencement dans les
solutions de 1/1.000 à 1/10.000, parce qu'elles se troublent.

Flavine.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/2.000.

4^e jour : même état.

5^e jour : pousse à 1/1.000 ; culture à peine sensible.

Thioflavine.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse très bien dans toutes les solutions.

4^e, 5^e jours : rien d'anormal.

Violet cristallisé.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse à 1/500.000.

5^e jour : pousse à 1/200.000.

8^e jour : même état.

Exo-Septoplix.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse dans toutes les solutions.

5^e jour : léger voile dans la solution à 1/10.000.

Vert de Janus.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/10.000.

5^e jour : pH à 1/10.000 = 7.

pH de 1/20.000 à 1/100.000 = 6,6.

Dans ces quatre solutions, le changement de coloration est très net.

7^e jour : pH à 1/10.000 = 6,6.

8^e jour : pH à 1/10.000 = 6,4. Dans les autres solutions, le pH est le même que le 7^e jour:

9^e jour : pousse très faiblement à 1/5.000.

10^e jour : la coloration est violette et le pH est le même.

Brillantazurine.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/1.000.

4^e jour : tendance à la décoloration.

5^e jour : le milieu reste très faiblement coloré de 1/1.000 à 1/5.000.

Dinitro-phénol.

Ensemencé le 10 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions ; virage vers le rouge orangé de 1/2.000 à 1/50.000, marqué à 1/5.000.

pH à 1/2.000 = 7,2.

pH à 1/5.000 = 6,8.

pH à 1/10.000 = 7.

pH à 1/20.000-1/50.000 = 7,2.

5^e jour : même état.

Ortho-nitro-phénol.

Ensemencé le 10 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions.

5^e jour : coloration rouge orangé ; pH de 1/1.000 = 7 ; pH de 1/2.000 = 7,2.

Trinitro-phénol.

Ensemencé le 10 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions ; changement de coloration de 1/1.000 à 1/100.000 ;

pH de 1/1.000 à 1/10.000 = 6,6.

pH de 1/20.000 à 1/50.000 = 7.

pH de 1/100.000 = 7,2.

5^e jour : à 1/200.000, léger changement de coloration.

Bleu méthylargyre.

Ensemencé le 19 février.

3^e jour : pousse à 1/50.000 ; la coloration est légère mais sensible à la surface du liquide tandis que le fond de la solution reste presque incolore.

8^e jour : il y a une légère fluorescence à 1/500.000.

Trypan bleu.

Ensemencé le 19 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions ; il y a changement de

coloration marqué à 1/5.000 et 1/10.000, moins nette de 1/20.000 à 1/200.000.

5^e jour : même état.

Bleu de Toluidine.

Ensemencé le 24 février.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

4^e jour : pousse à 1/100.000.

6^e jour : pousse à 1/20.000.

8^e, 10^e jours : même état.

Bleu Nil-sulfate.

Ensemencé le 24 février.

3^e jour : pousse à 1/1.000.

4^e, 6^e jours : même état.

Violet Dahlia.

Ensemencé le 27 février.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

5^e, 7^e, 9^e, 10^e jours : même état.

Bleu de Toluidine-éosine (milieu solide).

Ensemencé le 16 mai.

3^e jour : pousse à 1/10.000. Les colonies sont granuleuses et ont pris la couleur du colorant.

5^e, 7^e jours : même état.

Jaune d'acridine (milieu solide).

Ensemencé le 16 mai.

3^e jour : pousse à 1/10.000.

5^e, 7^e, 9^e, 10^e jours : même état.

Pyronine (milieu solide).

Ensemencé le 16 mai.

3^e jour : pousse à 1/5.000.

5^e jour : même état.

Jaune de Martius (milieu solide).

Ensemencé le 16 mai.

3^e jour : pousse à 1/50.000.

5^e jour : même état.

7^e jour : pousse à 1/20.000.

RÉSUMÉ

Concentrations maxima auxquelles a poussé le Colibacille.

- 1 : 200 : Dinitro-naphtol sulfoacide, jaune naphtol.
 - 1 : 1.000 : Flavine, thioflavine, exo-septoplix, brillantazurine, ortho-nitro-phénol, trinitro-phénol, trypan bleu, bleu nil sulfate.
 - 1 : 2.000 : Dinitro-crésol (Jaune Victoria), dinitro-phénol.
 - 1 : 5.000 : Auramine 00, Vert de Janus, pyronine.
 - 1 : 10.000 : Bleu de toluidine-éosine, jaune d'acridine.
 - 1 : 20.000 : Mercuro-chrome, gonacrine, rivanol, mercure-érythrosine, vert brillant, vert malachite, jaune de Martius, bleu de toluidine.
 - 1 : 50.000 : Bleu méthylargyre.
 - 1 : 100.000 : Violet Dahlia.
 - 1 : 200.000 : Violet cristallisé.
-

BACILLUS MYCOIDES

Mercurio-chrome

Ensemencé le 5 juillet.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

5^e jour : pousse à 1/50.000.

10^e jour : même état.

Gonacrine

Ensemencé le 17 juillet.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

5^e jour : même état.

10^e jour : pousse à 1/100.000.

Rivanol

Ensemencé le 29 septembre.

2^e jour : pousse à 1/200.000.

5^e, 8^e, 10^e jours : même état.

Jaune Victoria

Ensemencé le 10 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions.

A 1/20.000, changement de couleur (coloration rouge orangé) ; pH = 6, 8.

A 1/50.000, même coloration ; pH = 7.

5^e jour : Changement de coloration de 1/2.000 à 1/10.000, plus marqué à 1/2.000 ; pH = 6, 8.

pH de 1/5.000 à 1/10.000 = 7 (coloration rouge-orangé).

Dinitro-naphtol (sulfo-acide) solution à 1/200.

Ensemencé le 3 octobre.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions.

8^e et 10^e jours : même état.

Jaune naphtol

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1/200 ; il y a changement de coloration de 1/200 à 1/2.000 (rouge orangé).

pH = 6, 6.

7^e et 8^e jours : même état.

Auramine 00

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1/5.000.

5^e, 6^e, 7^e et 10^e jours : même état.

Mercure-érythrosine

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

5^e, 6^e, 8^e et 10^e jours : même état.

Vert brillant

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse seulement dans le témoin.

4^e, 5^e, 6^e et 7^e jours : même état.

Vert malachite

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

5^e jour : pousse très faiblement à 1/50.000.

7^e et 10^e jours : même état.

Flavine.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/500.000.

5^e, 6^e, 8^e et 10^e jours : même état.

Thioflavine.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : bien poussé dans toutes les solutions.

5^e, 8^e et 10^e jours : même état.

Violet cristallisé.

Ensemencé le 5 janvier.

- 4^e jour : pousse à 1/1.000.000.
- 6^e jour : pousse très faiblement à 1/500.000.
- 10^e jour : pousse très faiblement à 1/200.000.
- 12^e jour : même état.

Exo-septoplix.

Ensemencé le 5 janvier.

- 4^e jour : pousse dans toutes les solutions.
- 6^e, 8^e et 10 jours : même état.

Vert de Janus.

Ensemencé le 23 janvier.

- 3^e jour : pousse faiblement à 1/500.000.
- 4^e, 5^e, 7^e jours : même état.
- 8^e jour : pousse à 1/200.000.
- 9^e jour : même état.
- 10^e jour : même état.
- 12^e jour : pousse à 1/100.000.
- 17^e jour : même état.

Brillantazurine.

Ensemencé le 23 janvier.

- 3^e jour : pousse à 1/2.000.
- 5^e jour : pousse à 1/1.000 ; il y a tendance à la décoloration du milieu, surtout à 1/10.000 et 1/20.000.

Dinitro-phénol.

Ensemencé le 10 février.

- 3^e jour : pousse dans toutes les solutions. Changement de coloration marqué à 1/2.000 et 1/20.000 (coloration rouge).
 - pH de 1/2.000 = 6,8.
 - pH de 1/20.000 = 7.
- 5^e jour : la coloration rouge est plus marquée à 1/5000.

Ortho-nitro-phénol.

Ensemencé le 10 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions. Léger changement de coloration de 1/1.000 à 1/5.000.

pH de 1/1.000 = 6,8 ; pH de 1/2.000 = 7.

pH de 1/5.000 = 7,2.

5^e jour : la coloration est légèrement rouge-jaunâtre.

Trinitro-phénol.

Ensemencé le 10 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions ; changement de coloration dès 1/1.000 jusqu'à 1/200.000, plus marqué à 1/20.000 ; pH de 1/20.000 = 6,8.

5^e jour : la coloration de 1/1.000 à 1/20.000 est bien rouge.

7^e jour et 9^e jours : même état.

Bleu méthylargyre.

Ensemencé le 19 février.

3^e jour : pousse à 1/500.000.

6^e jour : pousse à 1/200.000.

8^e et 10^e jours : même état.

Trypan bleu.

Ensemencé le 19 février.

3^e jour : pousse à 1/2.000 ; changement de coloration marqué de 1/10.000 à 1/50.000.

6^e jour : pousse à 1/1.000 ; changement total de coloration.

pH de 1/5.000 = 6,8.

pH de 1/10.000 = 7.

Bleu de Toluidine.

Ensemencé le 24 février.

3^e jour : pousse à 1/500.000.

5^e et 6^e jours : même état.

8^e et 10^e jours : même état.

12^e jour : pousse à 1/200.000.

Bleu Nil-sulfate.

Ensemencé le 24 février.

3^e jour : pousse à 1/500.000.

4^e et 6^e jours : même état.

8^e et 10^e jours : même état.

12^e jour : pousse à 1/100.000.

Violet Dahlia.

Ensemencé le 27 février.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

5^e, 7^e, 9^e, 11^e jours : même état.

14^e jour : pousse à 1/50.000.

Bleu de Toluidine-éosine (milieu solide).

Ensemencé le 15 mai.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

6^e jour : pousse à 1/10.000.

8^e jour : pousse à 1/5.000.

Jaune d'acridine (milieu solide).

Ensemencé le 15 mai.

3^e jour : bien poussé à 1/20.000 ; la colonie est légèrement jaune.

6^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

8^e jour : bien poussé à 1/10.000.

10^e jour : même état.

Pyronine (milieu solide).

Ensemencé le 15 mai.

3^e jour : pousse à 1/5.000.

6^e, 8^e, 10^e jours : même état.

Jaune de Martius (dinitro-naphтол) (milieu solide).

Ensemencé le 15 mai.

3^e jour : pousse faiblement à 1/50.000.

6^e jour : bien poussé à 1/20.000.

8^e jour : pousse à 1/50.000.

10^e jour : même état.

RÉSUMÉ

Concentrations maxima auxquelles a poussé le *Bacillus mycoides*.

- 1 : 200 : Dinitro-naphtol sulfoacide, jaune naphtol.
- 1 : 1.000 : Thioflavine, exo-septoplix, brillantazurine, ortho-nitro-phénol, trinitro-phénol, trypan bleu.
- 1 : 2.000 : Dinitro-crésol (Jaune Victoria), dinitro-phénol.
- 1 : 5.000 : Pyronine, bleu de toluidine-éosine, auramine 00.
- 1 : 10.000 : Jaune d'acridine.
- 1 : 20.000 : Mercure-érythrosine, jaune de Martius.
- 1 : 50.000 : Mercuro-chrome, vert malachite, violet Dahlia.
- 1 : 100.000 : Vert de Janus, bleu Nil sulfate, Gonacrine.
- 1 : 200.000 : Violet cristallisé, bleu méthylargyre, bleu de toluidine.
- 1 : 500.000 : Rivanol, flavine.

Note : Le vert brillant a empêché le développement du *B. mycoides* même à 1/1'000.000.

STAPHYLOCOQUE

Mercurio-chrome.

Ensemencé le 5 juillet.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

5^e jour : pousse à 1/50.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : pousse à 1/20.000.

Gonacrine.

Ensemencé le 13 juillet.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

5^e jour : pousse à 1/50.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : pousse à 1/20.000.

Nota. — Regarder les tableaux généraux.

Rivanol.

Ensemencé le 26 septembre.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

5^e jour : pousse à 1/100.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : pousse à 1/50.000.

Jaune Victoria (Dinitro-crésol).

Ensemencé le 12 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions. La coloration est plus jaunâtre de 1/2.000 à 1/20.000, plus marquée à 1/2.000.

5^e jour : à 1/2.000, la coloration est jaune orangé.

pH = 6,8. Dès 1/10.000, il y a voile.

Dinitro-naphtol (sulfo-acide) ; solutions depuis 1/200.

Ensemencé le 13 octobre.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions.

10^e jour : même état.

Jaune naphtol.

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1/200.

5^e jour : la solution à 1/2.000 a pris une coloration rouge orangé très marquée ; dans les autres solutions, pas de changement de coloration appréciable.

6^e jour : pH de 1/1.000-1/2.000 = 6,6.

7^e et 8^e jours : même état.

Auramine OO.

Ensemencé le 29 novembre.

3^e jour : pousse à 1/2.000.

6^e, 7^e, 8^e, 10^e jours : même état.

Mercure-érythrosine.

Ensemencé le 29 novembre.

3^e, 4^e, 5^e jours : n'a pas poussé.

6^e jour : pousse à 1/50.000.

7^e, 8^e, 9^e, 10^e jours : même état.

Vert brillant.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse dans le témoin.

4^e jour : pousse à 1/500.000.

5^e, 6^e, 7^e jours : même état.

Vert malachite.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

4^e, 5^e, 6^e, 7^e, 8^e jours : même état.

Flavine.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/500.000 ; culture très faible.

5^e jour : même état.

6^e, 8^e, 10^e jours : même état.

Thioflavine.

Ensemencé le 2 décembre.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

4^e jour : même état.

5^e jour : pousse à 1/100.000.

6^e, 8^e jours : même état.

Violet cristallisé.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse très faiblement à 1/500.000.

6^e, 8^e jours : même état.

14^e jour : pousse faiblement à 1/200.000.

Exo-septoplix.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse dans toutes les solutions.

6^e, 7^e, 8^e jours : même état.

Vert de Janus.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

4^e, 5^e jours : même état.

6^e jour : pH de 1/500.000 = 7.

8^e, 9^e jours : même état.

10^e, 11^e jours : même état.

12^e jour : pousse à 1/100.000.

17^e jour : même état.

Brillantazurine.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/1.000.

4^e jour : légère tendance à la décoloration de 1/5.000 à 1 20.000.

5^e jour : la décoloration est plus marquée ; pH de 1/1.000 = 7,2.

Dinitro-phénol.

Ensemencé le 12 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions ; il y a accentuation de

la coloration de 1/2.000 à 1/20.000, plus marquée à 1/2.000 ;
pH = 6,9.

5^e jour : même état. Il y a un petit voile à 1/10.000.

Ortho-nitro-phénol.

Ensemencé le 12 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions ; il y a coloration
rouge orangé de 1 1.000 à 1 10.000, plus marquée à 1 2.000
et 1/5.000 ; pH = 6,8.

Coloration bien jaune à 1/20.000 ; pH = 7,2.

5^e jour : il y a une légère fluorescence à 1/20.000.

7^e, 8^e jours : léger voile.

Trinitro-phénol.

Ensemencé le 12 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions ; changement de colo-
ration de 1/1.000 à 1/50.000 ; la coloration est bien mar-
quée de 1/1.000 à 1.20.000.

4^e jour : coloration rouge orangé ; pH = 6.8.

Il y a une espèce de voile à 1/2.000.

Bleu méthylargyre.

Ensemencé le 19 février.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

4^e, 5^e, 6^e, 7^e jours : même état.

8^e jour : même état.

Trypan bleu.

Ensemencé le 19 février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions.

5^e jour : il y a un léger voile qui a attiré le colorant à la surface,
à 1/200.000.

6^e jour : il y a changement de coloration accentué de 1/20.000 à
1/100.000 ; pH = 7,2.

Bleu de toluidine.

Ensemencé le 24 février.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

4^e jour : même état.

5^e, 6^e, 8^e, 10^e jours : même état.

Bleu Nil-sulfate.

Ensemencé le 24 février.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

4^e, 6^e jours : même état.

6^e jour : même état.

10^e jour : pousse à 1/50.000.

Violet Dahlia.

Ensemencé le 27 février.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

4^e, 7^e, 9^e, 10^e jours : même état.

13^e jour : pousse à 1/20.000.

Bleu de toluidine-éosine (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse faiblement à 1/10.000 dans la moitié supérieure du tube, et la colonie est légèrement granuleuse.

Dès 1/20.000, les colonies sont bien développées ; les granulations présentent une coloration rougeâtre. Le milieu est acide : 6,6. L'éosine, en milieu acide, est précipitée ; il y a persistance de la coloration bleue.

5^e jour : même état.

8^e jour : pousse à 1/5.000.

Jaune d'acridine (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse bien à 1/20.000 ; les colonies sont granuleuses et légèrement jaunes.

5^e jour : même état.

10^e jour : au microscope : le colorant est bien pris par le noyau (électivement ?)

Pyronine (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions.

5^e jour : la colonie a pris une coloration bleu rosé.

Jaune de Martius (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse bien à 1/100.000 dans le tiers inférieur du milieu.

5^e jour : pousse dans tout le milieu à 1/100.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : même état.

RÉSUMÉ

Concentrations maxima auxquelles a poussé le Staphylocoque.

- | | |
|-------------|--|
| 1 : 200 | : Dinitro-naphtol sulfoacide, jaune naphtol. |
| 1 : 1.000 | : Exo-septoplix, brillantazurine, orthonitro-phénol, trinitro-phénol, trypan bleu. |
| 1 : 2.000 | : Dinitro-crésol (Jaune Victoria), dinitro-phénol, auramine 00. |
| 1 : 5.000 | : Bleu de toluidine-éosine, pyronine. |
| 1 : 20.000 | : Mercuro-chrome, gonacrine, vert malachite, violet Dahlia, jaune d'acridine. |
| 1 : 50.000 | : Rivanol, mercure-érythrosine, bleu Nil sulfate. |
| 1 : 100.000 | : Jaune de Martius, vert de Janus, bleu de méthylargyre, thioflavine. |
| 1 : 200.000 | : Violet cristallisé, bleu de toluidine. |
| 1 : 500.000 | : Vert brillant, flavine. |

ASPERGILLUS REPENS

Mercuro-chrome.

Ensemencé le 2 juillet.

5^e jour : pousse à 1/20.000.

6^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

8^e jour : pousse à 1/5.000.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000).

Le colorant est fixé sur la membrane des filaments et des conidiophores.

60^e jour : solution à 1/5.000 :



FIG. 1. — Asperg. rep. Mercurochrome.
Concentr. 1/5.000.

Les filaments sont chétifs et moniliformes. Quelques-uns présentent leur protoplasma légèrement contracté et granuleux.

On observe aussi des formes régressives des conidiophores qui simulent celles des *Penicillium* : la tête du conidiophore n'est plus renflée et les phialides, en petit nombre, sont groupées au sommet du filament conidifère.

Voir figure n° 1.

Gonacrine.

Ensemencé le 27 septembre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/200.000 ; filaments au fond.

5^e jour : à 1/200.000, colonies à la surface.

6^e jour : pousse à 1/100.000 ; filaments au fond.

7^e jour : léger voile à 1/200.000.

10^e jour : sporulation à 1/200.000.

19^e jour : pousse à 1/100.000.

48^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Les éléments sont très grêles et très rares (dose mortelle : 1/2.000, dose inhibitrice : 1/5.000).

A 1/10.000 : le colorant se fixe sur le protoplasma.

Les filaments sont couramment moniliformes et leur protoplasma est granuleux et rétracté.

Les spores sont colorées en jaune et la plupart sont en état de germination.

Rivanol.

Ensemencé le 26 septembre.

3^e jour : pousse à 1/200.000 ; filaments au fond du tube.

5^e jour : pousse à 1/100.000 ; filaments au fond.

6^e jour : pousse à 1/100.000 ; il y a des colonies à la surface.

A 1/200.000, il y a un voile.

7^e jour : à 1/100.000, début de sporulation.

10^e jour : sporulation avancée.

50^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Les éléments sont mal développés, moniliformes, le protoplasma est rétracté et granuleux.

Les spores ne sont pas déformées ; elles ont fixé le colorant ; pas de chlamydospores ; tendance à l'allongement des phialides.

Jaune Victoria.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse très faiblement à 1/5.000 ; dès 1/10.000, il y a des colonies au fond du tube.

5^e jour : bien poussé à 1/5000.

7^e jour : même état.

9^e jour : pousse très faiblement ; dès 1/10.000, il y a voile.

11^e jour : pousse un peu mieux à 1/20.000.

13^e jour : Examen microscopique (concentration à 1/2.000) :



FIG. 2. — *Asperg. rep.* Jaune Victoria.
Concentr. 1/2.000.

Les éléments sont petits, pas très développés en longueur. Le protoplasma est rétracté et granuleux et il y a beaucoup d'éléments moniliformes.

Une coloration, à l'orcanette montre de petites gouttelettes d'huile à l'intérieur des filaments.

Voir figure n° 2.

Dinitro-naphtol (sulfo-acide) (concentration 1/200).

Ensemencé le 4 octobre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/200 ; filaments au fond ; à 1/500, colonies à la surface.

5^e, 8^e et 10^e jours : même état.

42^e jour : Examen microscopique (concentration 1/200) :

Les éléments sont moniliformes, sinueux, cloisonnés, avec un protoplasma rétracté et granuleux. Les spores ont bien fixé le colorant et présentant une germination normale.

Voir figure n° 3.



FIG. 3. — *Asperg. rep.* Dinitro-naphtol.
Concentr. 1/200.

Jaune naphthol.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse à 1/200 ; filaments au fond.

5^e jour : il y a des colonies à la surface.

6^e jour : il y a sporulation très nette.

8^e jour : Examen microscopique (concentration 1/200) :

Les éléments sont normaux ; quelques-uns, très rares, sont moniliformes. Protoplasma granuleux.

Auramine 00.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

5^e jour : même état.

3^e jour : même état.

30^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Quelques éléments sont chétifs, moniliformes, un peu cloisonnés, granuleux.

Le protoplasma est légèrement granuleux, et a bien fixé le colorant.



FIG. 4. — *Aspergillus repens*. Auramine.
Concentr. 1/10.000.

Avec l'orcanette, on remarque des gouttelettes d'huile rares et petites.

Voir figure n° 4.

Mercure-érythrosine.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse à 1/100.000 ; filaments au fond.

5^e jour : pousse à 1/20.000, mais très faiblement.

8^e jour : pousse à 1/10.000.

10^e jour : il y a une migration du colorant vers la surface.

30^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Eléments grêles, cloisonnés, peu abondants. Protoplasma granuleux et rétracté.

Vert brillant.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse seulement dans le témoin.

4^e jour : pousse à 1/1.000.000.

5^e, 6^e, 7^e jours : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000.000) :

Le développement des éléments est presque normal. On voit quelques chlamydospores, presque toutes terminales. Le colorant est fixé sur le protoplasma.

Le protoplasma est granuleux et rétracté. Dans quelques chlamydospores, il est condensé vers le centre et légèrement réfringent.

La dimension moyenne des chlamydospores est de 2,5 μ .

* **Vert malachite.**

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse seulement dans le témoin.

Note. — Après 11 jours, pousse faiblement à 1/1.000.000.

Examen microscopique : rien d'anormal.

Flavine.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse au fond du liquide à 1/200.000.

4^e jour : pousse bien à 1 100.000 ; à 1 50.000, pousse très faiblement.

10^e jour : a bien poussé à 1/50.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Les éléments sont fins, sinueux ; le protoplasma est légèrement granuleux ; il y a quelques chlamydospores. Avec l'orcanette, très petites gouttelettes d'huile.

Thioflavine.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/20.000 ; filaments au fond ; à 1.10.000, colonies à la surface.

6^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Les éléments sont presque normaux, le protoplasma est granuleux. Chlamydospores terminales en grande quantité ; dimension des chlamydospores : 1,5 μ .

Quelques éléments présentent des renflements terminaux ou latéraux de dimensions moyennes (3,5 μ).

Avec l'orcanette, petites gouttelettes d'huile.

Violet cristallisé.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse seulement dans le témoin.

10^e jour : n'a poussé à aucune dilution.

Exo-septoplix.

Ensemencé le 5 janvier.

3^e jour : pousse à 1/20.000, avec filaments au fond ; à 1/200.000, filaments au fond et colorant en surface.

5^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

11^e jour : pousse faiblement à 1/5 000.

14^e jour : pousse à 1/2.000.

8^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Coloration fixée sur le protoplasma qui est granuleux ; les filaments sont sinueux ou moniliformes. Il y a quelques chlamydospores terminales.

Vert de Janus.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/500.000.

17^e jour : pousse très faiblement à 1/200.000.

18^e jour : examen microscopique (concentration 1/200.000) :

Les éléments sont extrêmement grêles. Les phialides sont peu abondantes et présentent une modification très manifeste d'allongement et de cloisonnement.



FIG. 5. — *Aspergillus repens*. Vert de Janus.
Concentr. 1/200.000.

Les spores sont souvent en état de germination et leur noyau est très développé.

Voir figure N° 5.

Brillantazurine.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/2.000 avec filaments peu abondants au fond.

5^e jour : pousse à 1/1.000 en voile.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Eléments normaux.

Dinitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse à 1/5.000 avec colonies au fond ; à 1/100.000, il y a voile.

7^e jour : à 1/20.000, il y a des colonies à la surface.

9^e jour : colonies à la surface à 1 10.000 ; pousse à 1 2.000 très faiblement.

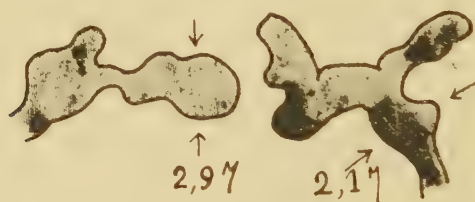


FIG. 6. — *Aspergillus repens*. Dinitro-phénol.
Concentr. 1 2.000.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :

Les filaments sont presque tous moniliformes ; quelques-uns sont courts et gros ; le protoplasma est granuleux et rétracté dans quelques éléments, les autres gonflés irrégulièrement.

Voir figure N° 6.

Ortho-nitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse faiblement à 1/20.000, filaments au fond.

7^e jour : à 1/50.000, il y a voile.

9^e jour : même état.

10^e jour : pousse à 1/10.000.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Éléments malingres ; protoplasma granuleux et rétracté dans quelques-uns des filaments. Il y a quelques chlamydospores.

Avec l'orcanette, quelques gouttelettes d'huile petites et peu abondantes.

Trinitro-phénol.

Ensemencé le 1^{er} février.

3^e jour : pousse dans toutes les solutions au fond du tube ; dès 1/10.000, il y a des colonies sur les parois et à la surface du liquide.

jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Les éléments sont chétifs, sinueux ; le protoplasma assez granuleux ; il y a des chlamydospores.

A l'orcanette, très petites et très rares gouttelettes d'huile.

Bleu méthylargyre.

Ensemencé le 2 mars.

3^e jour : pousse à 1/100.000, avec colonies au fond.

5^e jour : à 1/200.000, colonies de surface.

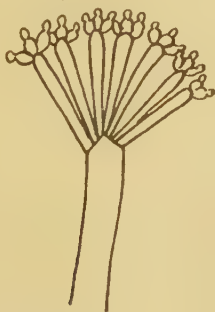


FIG. 7. — *Aspergillus repens*, Bleu méthylargyre.
Concentr. 1/10.000.

7^e jour : pousse à 1/50.000 au fond ; à 1/100.000, colonies à la surface.

10^e jour : voile à 1/50.000.

15^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

A remarquer que la coloration bleue n'est manifeste qu'à la surface du liquide.

15^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000 et 1/20.000) :

Les éléments sont chétifs.

A 1/50.000, les filaments sont normaux, la sporulation normale. Il y a une tendance marquée à l'allongement des phialides.

Voir figure N^o 7.

Bleu de Toluidine.

Ensemencé le 7 mars.

3^e jour : pousse à 1/5.000.

5^e jour : à 1/10.000, colonies à la surface et filaments au fond.

7^e jour : à 1/20.000, léger voile ; à 1/200.000, voile complet.

10^e jour : pousse à 1/1.000.

13^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Allongement des phialides ; le colorant est fixé par quelques éléments qui sont, les uns, bleus, les autres, violets (oxydo-réduction). Sporulation normale.

Bleu Nil-sulfate.

Ensemencé le 17 mars.

3^e jour : pousse à 1/20.000, filaments au fond.

5^e jour : pousse faiblement à 1/5.000. A 1/20.000, colonies à la surface

7^e jour : à 1/5.000, colonies à la surface.

10^e jour : pousse très faiblement à 1/2.000.

15^e jour : pousse à 1/1.000.

17^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Les éléments sont assez colorés, un peu *maigres* ; sporulation normale et tendance à l'allongement des phialides.

Violet dahlia .

Ensemencé le 11 avril.

3^e jour : pousse à 1/200.000, filaments au fond ; à 1/1'000.000, petites colonies à la surface.

5^e jour : même état.

8^e jour : à 1/200.000, colonies à la surface et à 1/500.000, voile.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200.000) :

Les filaments sont normaux pour la plupart. Il y a une tendance accentuée à l'allongement des phialides avec

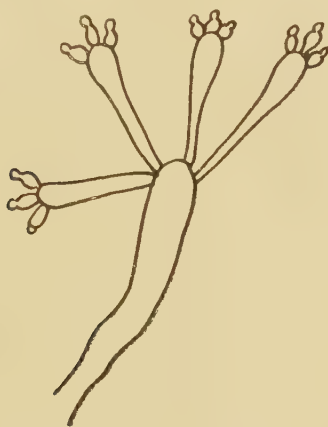


FIG. 8. — *Aspergillus repens*. Violet Dahlia.
Concentr. 1/200.000.

production de phialides secondaires. Avec l'orcanette, quelques bulles d'huile dans les filaments grêles et non sporulés.

Voir figure N° 8.

Prontosil rubrum (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse à 1/20.000 ; le tiers supérieur est filamenteux, les deux autres tiers sont humides ; bien poussé à 1/50.000.

5^e jour : à 1/20.000, le tiers supérieur présente une sporulation légère. A 1/50.000, sporulation complète ; la coloration des colonies est vert olive.

A 1/10.000, faible commencement de germination.

7^e jour : à 1/10.000, retard de sporulation.

14^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Sporulation normale, mais tendance à l'allongement des phialides.

Jaune de Martius (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : à 1/20.000, pousse assez bien ; les deux tiers inférieurs de la colonie sont humides.

A 1/20.000 et 1/50.000, le tiers inférieur est humide et granuleux.

A 1/100.000, la culture est complètement filamenteuse.

5^e jour : à 1/20.000, les deux tiers supérieurs sont bien développés.

A 1/50.000, sporulation complète et coloration vert olive de la colonie.

7^e jour : à 1/20.000, retard de sporulation.

11^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

13^e jour : même état. A 1/20.000, sporulation normale.

13^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Les éléments sont *maigres*, parfois très cloisonnés, moniliformes ; quelques-uns sont colorés en jaune ; le protoplasma est granuleux ; pas de sporulation.

Pyronine (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse dans tous les tubes.

5^e jour : sporulation et coloration des colonies en vert foncé.

7^e jour : décoloration légère du milieu.

14^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Éléments bien développés, assez bien cloisonnés. La sporulation est normale ; le protoplasma de quelques éléments est granuleux. Avec l'orcanette, rares petites gouttelettes d'huile. Tendance à l'allongement des phialides.

Jaune d'acridine (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse faiblement au 1/10.000 dans le tiers supérieur.

A 1/20.000, la colonie est humide et granuleuse. A 1/50.000, le tiers supérieur est filamenteux.

5^e jour : à 1/20.000, début de sporulation.

10^e jour : à 1/5.000, pousse faiblement.

12^e jour : Examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Les filaments sont sinueux, fins et non colorés, cependant que les spores, au contraire, ont bien fixé le colorant.

A remarquer une disparition totale des phialides ; les conidies naissent directement sur les conidiophores.

Voir figure N° 9.



FIG. 9. — *Aspergillus repens* (milieu solide). Jaune d'acridine
Concentr. 1/5.000.

Bleu de toluidine-éosine (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : à 1/10.000, pousse faiblement, la colonie est humide.

A 1/20.000, le tiers inférieur est humide et les tiers supérieurs sont filamenteux.

A 1/50.000 et 1/100.000, filamenteux.

5^e jour : à 1/10.000, la colonie est mieux développée.

A 1/20.000, les deux tiers sont sporulés.

A 1/50.000 et 1/100.000, sporulation complète et la couleur de la colonie est vert-olive.

7^e jour : à 1/10.000, début de sporulation.

A 1/20.000, la sporulation du tiers inférieur est lente.

11^e jour : pousse faiblement à 1/5.000 dans la partie supérieure du milieu ; il y a commencement de sporulation.

Oxydo-réduction : A 1/10.000, le milieu a perdu la coloration bleue et reste seulement coloré par l'éosine ; puis

celle-ci à son tour vire au vert, et enfin le milieu se décolore complètement (réduction progressive du colorant).

11^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Les éléments sont sinueux et granuleux et un peu moniliformes ; sporulation normale. Leur membrane est coloré en jaune.

A l'orcanette, gouttelettes d'huile petites et rares.

Trypan bleu.

Ensemencé le 2 mars.

3^e jour : pousse à 1/5.000 au fond du tube.

5^e jour : pousse à 1/1.000.

7^e jour : il y a des colonies à la surface de la solution à 1/1.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Légère tendance à l'allongement des phialides.

18^e jour : cloisonnement de quelques éléments ; sporulation normale.

RÉSUMÉ

Concentrations maxima auxquelles a poussé l'*Aspergillus repens*.

1 : 200	: Dinitro-naphtol sulfoacide, jaune naphtol.
1 : 1.000	: Brillantazurine, trinitro-phénol, trypan bleu, bleu de toluidine, bleu Nil sulfate.
1 : 2.000	: Jaune Victoria, exo-septoplix, dinitro-phénol.
1 : 5.000	: Mercuro-chrome, gonacrine, bleu de toluidine-éosine, jaune d'acridine, pyronine.
1 : 10.000	: Auramine 00, mercure-érythrosine, ortho-nitro-phénol, bleu méthylargyre, prontosil, jaune de Martius.
1 : 20.000	: Rivanol, thioflavine.
1 : 50.000	: Flavine.
1 : 200.000	: Vert de Janus, violet Dahlia.
1 : 1'000.000	: Vert brillant, vert malachite.
Rien	: Violet cristallisé.

PENICILLIUM LUTEUM

Mercuro-chrome.

Ensemencé le 12 juillet.

- 4^e jour : pousse à 1/50.000, filaments au fond.
- 5^e jour : pousse faiblement à 1/20.000.
- 6^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.
- 20^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.
- 30^e jour : pousse très faiblement à 1/2.000.
- 18 novembre : examen microscopique : (concentration 1/2.000) :
 - Eléments très fins, sinueux, peu abondants.
 - Concentration 1/5.000 : sporulation nette et complète.
 - La plupart des filaments sont bien développés, monili-formes. Le protoplasma est un peu granuleux, contracté.
 - Le colorant est fixé sur la membrane des filaments. Le traitement à l'orcanette montre d'abondantes gouttelettes d'huile dans l'intérieur des cellules.

Gonacrine.

Ensemencé le 27 septembre.

- 3^e jour : pousse à 1/200.000, filaments au fond.
- 5^e jour : pousse à 1/100.000.
- 7^e jour : pousse à 1/20.000.
- 8^e jour : pousse à 1/10.000.
- 10^e jour : pousse à 1/5.000 avec filaments au fond.
- 11^e jour : pousse à 1/2.000, filaments au fond. Les cultures de 1/50.000 à 1/5.000 restent floconneuses dans le fond du liquide. Il n'y a pas de voile en surface, ni de fructification.
- 50^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :
 - Le colorant est fixé sur le protoplasma ; celui-ci est granuleux et rétracté. La plupart des filaments sont grêles et sinueux. On remarque un allongement important, avec cloisonnement, des phialides.

Avec l'orcanette, on trouve d'abondantes gouttelettes d'huile.

Rivanol.

Ensemencé le 26 septembre.

- 3^e jour : pousse à 1/100.000 ; filaments au fond et quelques petites colonies à la surface.
- 4^e jour : pousse faiblement à 1/50.000 au fond.
- 5^e jour : à 1/50.000, colonies à la surface.
- 7^e jour : à 1/50.000, voile à la surface.
- 10^e jour : même état.
- 52^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

La plupart des filaments sont longs, sinueux, cloisonnés, malingres (longueur : 0 μ 31). Le protoplasma est granuleux, rétracté et a bien fixé le colorant.

Dinitro-crésol.

Ensemencé le 11 octobre.

- 3^e jour : pousse à 1/2.000 au fond.
- 4^e jour : à 1/5.000, début de voile.
- 6^e jour : à 1/2.000, léger voile qui tombe au fond.
- 10^e jour : pas de formation de nouveau voile.
- 50^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :

La plupart des filaments sont fins, sinueux, irréguliers, quelques-uns moniliformes ; les phialides sont allongées et sans fructification ou avec spores plus ou moins avortées. Le protoplasma est rétracté et a bien fixé le colorant.

Dinitro-naphtol (sulfo-acide) (concentration depuis 1/200.)

Ensemencé le 12 octobre.

- 3^e jour : pousse à 1/200 au fond ; à 1/500, formation d'un voile.
- 5^e jour : léger voile.
- 8-10^e jours : à 1/200, voile complet. Sporulation nette.
- 42^e jour : Examen microscopique (concentration 1/200) :

Protoplasma granuleux. La plupart des filaments sont presque normaux, d'autres sont moniliformes. Certains des articles de ces derniers sont nettement isolés par des

cloisons du reste du filament. En raison de l'épaisseur de la paroi de l'élément ainsi isolé, il n'est pas imprudent de le considérer comme une chlamydospore ou du moins comme un début de chlamydospore.

Voir figure N° 10.

Le colorant est fixé sur le protoplama.



FIG. 10. — *Penicillium lut.* Dinitro-naphtol (sulfoacide).
Concentr. 1/200.

Jaune naphtol (concentration 1/200).

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse à 1/200 au fond et voile à la surface.

5^e jour : meilleur développement.

8^e jour : Examen microscopique (concentration 1/200) :

Filaments normaux, quelques-uns sont sinueux et cloisonnés. Le colorant est fixé sur le protoplasma. Les filaments conidifères ont une tendance manifeste à exagérer

la longueur des cellules portant les phialides. Néanmoins, beaucoup de conidiophores restent normaux.

Voir figure N° 11.

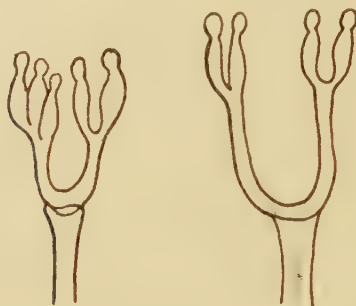


FIG. 11. — *Penicillium luteum*. Jaune naphтол.
Concentr. 1/200.

Auramine 00.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse à 1/5.000.

5^e jour : à 1/5.000, voile à la surface, début de sporulation.

8^e jour : sporulation complète.

38^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :



FIG. 12. — *Penicillium luteum*. Auramine 00.
Concentr. 1/5.000.

Le protoplasma est granuleux et a fixé le colorant. Les filaments sont grêles et sinueux ; de place en place, certains d'entre eux s'anastomosent sur une certaine longueur, puis reprennent parfois leur individualité.

Voir figure N° 12.

Mercure-érythrosine.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse à 1/10.000.

5^e jour : voile à 1/10.000.

8^e jour : pousse très faiblement à 1/5.000.

10^e jour : même état, pas de modifications.

38^e jour : examen microscopique (concentrations : 1/5.000 et 1/10.000) :

A 1/5.000, éléments très malingres, sinueux, peu abondants ; à 1/10.000, filaments normaux. Protoplasma légèrement granuleux et rétracté dans quelques filaments.

Vert brillant.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/500.000 ; filaments au fond et voile à la surface.

5^e jour : pousse à 1/200.000.

8^e jour : très léger voile.

10^e jour : même état.

11^e jour : examen microscopique (concentration 1/200.000) :

Filaments normaux. A l'orcanette, gouttelettes d'huile rares et très petites.

Vert malachite.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/500.000.

5^e jour : pousse à 1/200.000.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200.000) :

Filaments normaux : quelques-uns renferment des chlamydospores terminales (dimension : 1,5 μ).

Flavine.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

5^e jour : pousse à 1/10.000, très faiblement.

8^e jour : même état ; peu de fructifications.

10^e jour : a mieux poussé.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Eléments normaux ou moniliformes ; protoplasma légèrement rétracté.

Thioflavine.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/5.000 ; filaments au fond et colonies à la surface.

5^e jour : à 1/5.000, léger voile.

8^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Le colorant est fixé sur le protoplasma ; celui-ci est granuleux et rétracté. Avec l'orcanette, petites et rares gouttelettes d'huile.

Violet cristallisé.

Ensemencé le 5 janvier.

3^e jour : pousse à 1/1.000.000.

4^e jour : petites colonies à la surface à 1/1.000.000.

5^e jour : pousse faiblement à 1/500.000.

7^e jour : colonies à la surface à 1/500.000.

10^e jour : même état.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/500.000) :

Filaments chétifs, sinueux ; protoplasma granuleux. Beaucoup de conidies, qui sont en voie de germination ; rameaux mycéliens non déformés.

Exo-septoplix.

Ensemencé le 5 janvier.

3^e jour : pousse très bien à 1/1.000.

5^e jour : voile complet.

7^e jour : sporulation.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Rien d'anormal.

Vert de Janus.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

7^e jour : pousse très faiblement à 1/10.000.

10^e jour : même état.

20^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Filaments grêles ; protoplasma granuleux. Avec l'orcanette, rares petites gouttelettes d'huile.

Brillantazurine.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/1.000.

4^e jour : même état.

5^e jour : voile dans tous les tubes.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Rien d'anormal.

Dinitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse à 1/2.000 ; filaments au fond et petites colonies à la surface.

9^e jour : voile à 1/2.000.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :

Protoplasma granuleux, rétracté dans quelques filaments ; le colorant est fixé sur le protoplasma. Quelques filaments malingres.

Ortho-nitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

7^e jour : pousse à 1/10.000.

9^e jour : voile à 1/10.000.

10^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

16^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Filaments grêles, sinueux. Le colorant est fixé sur le protoplasma qui est légèrement granuleux. Il y a quelques chlamydozoïdes.

Trinitro-phénol.

Ensemencé le 1^{er} février.

3^e jour : pousse très bien à 1/1.000 ; voile dans tous les tubes.

Les colonies ont pris une coloration légèrement jaunâtre.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Filaments grêles. Avec l'orcanette, petites gouttes d'huile.

Bleu méthylargyre.

Ensemencé le 2 mars.

3^e jour : pousse à 1/20.000 ; filaments au fond et colonies à la surface.

5^e jour : pousse bien à 1/5.000.

7^e jour : même état..

15^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Rien d'anormal.

Trypan bleu.

Ensemencé le 2 mars.

3^e jour : pousse à 1/1.000.

5^e jour : voile dans tous les tubes.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Le colorant est bien fixé par la membrane des filaments qui sont, en général, bien développés. Sporulation normale.

Bleu de Toluidine.

Ensemencé le 7 mars.

3^e jour : pousse bien à 1/1.000.

5^e jour : voile à 1/1.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

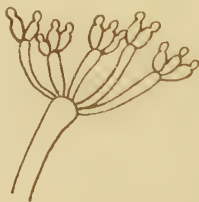


Fig. 13. — *Penicillium luteum*. Bleu de toluidine.
Concentr. 1/1.000.

Quelques filaments grêles et cloisonnés. Certains ont bien fixé le colorant sur leur membrane.

Allongement des phialides et apparition de phialides secondaires.

Voir figure N° 13.

Bleu Nil-sulfate.

Ensemencé le 7 mars.

3^e jour : pousse à 1/5.000 au fond.

4^e jour : pousse à 1/2.000.

8^e jour : pousse à 1/1.000 au fond.

10^e jour : colonies à la surface.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

La plupart des filaments sont grêles ; le colorant est fixé sur la membrane. Sporulation normale.

Violet Dahlia.

Ensemencé le 1^{er} avril.

3^e jour : pousse à 1/100.000 au fond.

5^e jour : pousse faiblement à 1/50.000. A 1/100.000, colonies à la surface.

8^e jour : A 1/50.000, petites colonies à la surface.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Les filaments sont bien développés ; la plupart sont moniliformes ; quelques-uns de ceux-ci ont le protoplasma rétracté.

Il y a des chlamydo-spores.

Bleu de toluidine-éosine (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse bien à 1/10.000 ; la culture est humide et grumeleuse ; à 1/20.000, elle est grumeleuse, mais seulement dans sa partie inférieure.

5^e jour : A 1/20.000, sporulation nette.

8^e jour : A 1/10.000, sporulation complète.

11^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Il y a des éléments grêles, granuleux. Le colorant est fixé sur la membrane. Les spores n'ont fixé que l'éosine.

Elles apparaissent ainsi colorées en rose, alors que les filaments sont violets. Le milieu tend à se décolorer graduellement au contact de la culture. Nous sommes vraisemblablement en présence d'un phénomène d'oxydo-réduction, avec passage du bleu de toluidine à son leuco-dérivé, ce qui entraîne la décoloration du milieu, suivie d'une réoxydation tardive au contact immédiat de la culture et réapparition de la coloration bleue.

Jaune d'acridine (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse faiblement à 1/10.000 dans le tiers supérieur du milieu. A 1/20.000, dans le tiers inférieur, la colonie est humide et grumeleuse.

5^e jour : A 1/10.000, retard de sporulation ; à 1/20.000, dans les deux tiers supérieurs, la sporulation est peu abondante.

8^e jour : même état.

13^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Sporulation normale ; éléments bien développés, un peu granuleux.

Pyronine (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse dans tous les milieux.

5^e jour : sporulation.

13^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Sporulation normale ; éléments sinueux et granuleux, assez bien développés.

Jaune de Martius (milieu solide).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

5^e jour : à 1/50.000, sporulation nette. A 1/20.000, retard de sporulation.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Les éléments sont normaux ; sporulation complète.

Prontosil rubrum (milieu solide, solution 1/5.000).

Ensemencé le 13 mai.

3^e jour : pousse à 1/10.000 ; le tiers inférieur de la culture est humide.

5^e jour : à 1/20.000, début de sporulation dans le tiers supérieur.

A 1/50.000, sporulation complète et légère décoloration du milieu.

9^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Les éléments sont assez bien développés, un peu sinueux, légèrement moniliformes. Avec l'orcanette, quelques gouttelettes d'huile.

RÉSUMÉ

Concentrations maxima auxquelles a poussé le *Penicillium luteum*.

1 : 200 : Dinitro-naphtol sulfoacide, jaune naphtol.

1 : 1.000 : Exo-septoplix, brillantazurine, trinitro-phénol, trypan bleu, bleu de toluidine, bleu Nil sulfate.

1 : 2.000 : Mercuro-chrome, gonacrine, jaune Victoria, dinitro-phénol.

1 : 5.000 : Auramine 00, mercure-érythrosine, thioflavine, ortho-nitro-phénol, bleu de méthylargyre, bleu de toluidine-éosine, pyronine, prontosil.

1 : 10.000 : Flavine, vert de Janus, jaune d'acridine.

1 : 20.000 : Jaune de Martius.

1 : 50.000 : Rivanol.

1 : 200.000 : Vert brillant, vert malachite.

1 : 500.000 : Violet cristallisé.

RHIZOMUCOR SEPTATUS

Mercurio-chrome.

Ensemencé le 12 juillet.

3^e jour : pousse à 1/100.000, filaments restant au fond du tube ;
à 1/200.000 voile.

5^e jour : pousse à 1/50.000.

8^e jour : pousse à 1/20.000. A 1/50.000 voile.

10^e jour : sporulation à 1/50.000.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000).

Les filaments sont grêles ; le colorant est fixé sur le protoplasma, celui-ci est granuleux.

Note. — 19 octobre : pousse dans toutes les solutions avec voile aux concentrations de 1/2.000 et au-dessous.

A 1/1.000 il a poussé seulement en profondeur.

A l'examen microscopique, à 1/2.000 les filaments sont fins et le colorant fixé sur le protoplasma.

A 1/1.000 les filaments sont extrêmement grêles, et bien colorés par le mercurio-chrome ; la fructification n'est pas abondante.

Gonacrine.

Ensemencé le 27 septembre.

3^e jour : pousse à 1/500.000.

5^e jour : pousse à 1/200.000, filaments au fond ; à 1/500.000, filaments à la surface.

6^e jour : même état.

7^e jour : pousse faiblement à 1/100.000.

8^e jour : léger voile à 1/200.000. A 1/500.000 sporulation.

20^e jour : pousse très faiblement et en profondeur à 1/50.000.

24^e jour : examen microscopique (concentr. 1/50.000-1/100.000-1/200.000).

1/50.000 : éléments extrêmement grêles et pas de fructification.

1/100.000 : le protoplasma a bien fixé le colorant ; il est aussi granuleux. La plupart des filaments sont déformés et renflés, surtout à leur extrémité ; leur protoplasma est rétracté vers le centre. Il y a quelques chlamydospores.

Rivanol.

Ensemencé le 26 septembre.

3^e jour : pousse au fond à 1/50.000. A 1/200.000 voile.

5^e jour : à 1/50.000 début de voile.

6^e jour : à 1/50.000 voile net.

10^e jour : début de sporulation à 1/50.000.

20^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Dégénérescence des filaments, formation de bulles de graisse très abondantes, remplissant certains filaments et s'épanchant souvent au dehors (coloration par l'orcelette). Les filaments sont souvent hypertrophiés.

Le protoplasma devient granuleux ; les granulations prennent des formes irrégulières, en s'agglutinant entre elles. En même temps, elles fixent fortement l'orcelette,

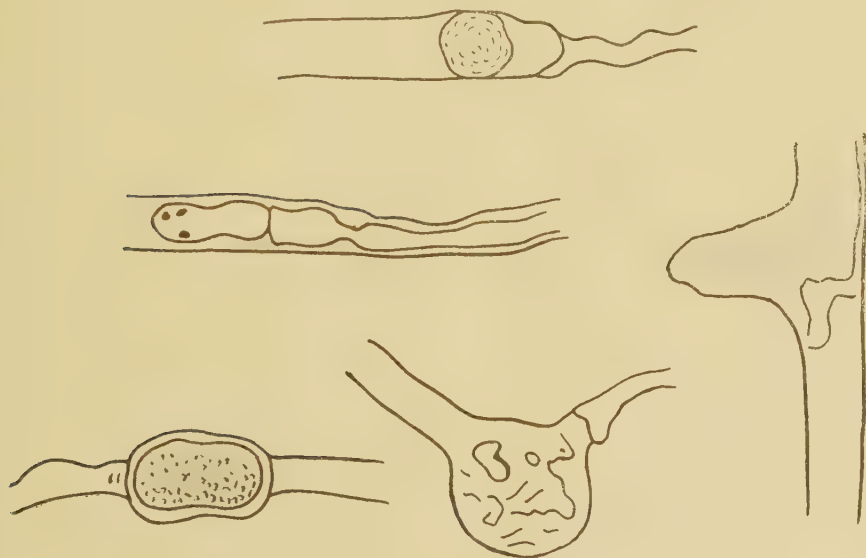


FIG. 14. — Rhizom. sept. Rivanol.
Concentr. 1/50.000.

puis peu à peu elles se fluidifient et prennent l'aspect de grosses gouttelettes se colorant toujours avec énergie par l'orcanette. Cette accumulation d'huile est particulièrement remarquable dans beaucoup des filaments hypertrophiés.

A remarquer que la production des sporanges est diminuée.

Voir figure n° 14.

Jaune Victoria.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : à 1/5.000 filaments au fond ; à 1/50.000 léger voile.

9^e jour : à 1/10.000 colonies à la surface.

10^e jour : à 1/10.000 voile net.

14^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000).

Le protoplasma est granuleux, rétracté et a bien fixé le colorant ; les hyphes sont assez irrégulièrement gonflées.

Voir figure n° 15.

Dinitro-naphtol (sulfo-acide).

Ensemencé le 4 octobre.

3^e jour : pousse faiblement dans le fond à 1/1.000.

5^e jour : voile à 1/1.000.

7^e jour : sporulation.

10^e jour : même état.

Concentrations 1/200-1/500-1/750.

Ensemencé le 12 octobre :

3^e jour : pousse très faiblement en profondeur à 1/200.

5^e jour : à 1/500 voile.

8^e jour : sporulation à 1/500.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentrations 1/1.000-1/2.000) :

1/1.000 : protoplasma très légèrement granuleux.

1/2.000 : filaments extrêmement grêles et sinueux, fructification très réduite : le colorant est fixé sur le protoplasma.



FIG. 15. — Rhizom. Sept. Dinitro-crésol.
Concentr. $1/16,000$.

Jaune naphtol.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse en profondeur à 1/200.

5^e jour : à 1/2.000 début de sporulation.

8^e jour : à 1/500 début de sporulation.



Fig. 16. — Rhizom. sept. Jaune naphtol.
Concentr. 1/200.

10^e jour : à 1/200 voile et début de sporulation.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200).

La plupart des éléments sont très fortement et irrégulièrement hypertrophiés. Le protoplasma est contracté et particulièrement granuleux dans les filaments hypertrophiés.

Voir figures n^{os} 16 et 17.

Auramine OO.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse très faiblement en profondeur à 1/2.000.

5^e jour : à 1/10.000, voile.

8^e jour : à 1/5.000, voile.

10^e jour : à 1/1.000, début de sporulation.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000)

Hyphes extrêmement grêles, sinueuses, irrégulières et rares.

24^e jour : concentration 1/5.000.

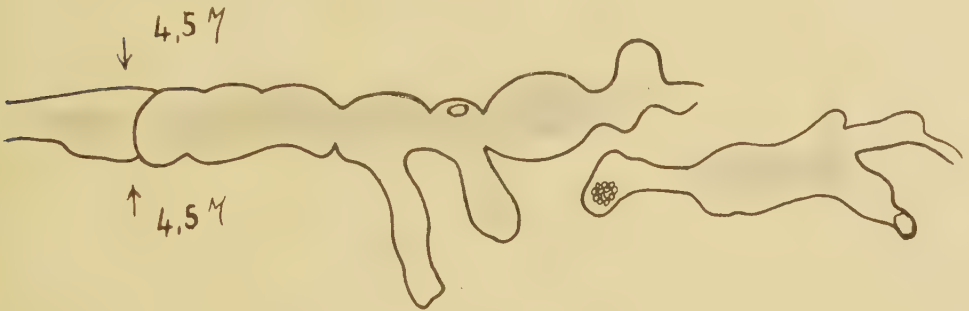


Fig. 17. — Rhizom. sept. Jaune naphthol.
Concentr. 1/200.

La plupart des filaments sont bien développés, le protoplasma est rétracté. On peut observer la formation d'œufs, assez rares, mais surtout la formation de kystes. Un petit nombre de ceux-ci ont l'aspect normal de ces éléments, mais la plupart consistent dans la transformation d'une portion plus ou moins longue, plus ou moins ramifiée du filament qui s'isole par des cloisons et dont le protoplasma devient extrêmement dense et granuleux en même temps qu'il fixe fortement la matière colorante et devient presque opaque.

Mercure-Erythrosine.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse en profondeur à 1/5000. A 1/50.000, début de voile.

5^e jour : à 1/5.000, quelques filaments à la surface.

8^e jour : à 1/10.000 début de sporulation. On observe une précipitation du colorant qui est fixé sur les hyphes.

10^e jour : pousse très faiblement en profondeur à 1/2000.

12^e jour : même état.

14^e jour : examen microscopique (concentrations 1 2.000-1 5.000) :
1/2.000 : Hyphes extrêmement grêles, sinueuses, irrégulières et rares. 1/5.000 : les hyphes sont souvent hypertrophiées et présentent en même temps une agglomération des filaments, soudés entre eux et présentant l'aspect moniliforme, avec protoplasma granuleux. Quelques



FIG. 18. — Rhizom. sept. mercuro-érythrosine.
Concentr. 1/5.000.

filaments sont grêles, avec protoplasma rétracté vers le centre et le colorant bien fixé sur celui-ci.

Voir figure n° 18.

Vert brillant.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/200.000 avec abondante fructification.

5^e jour : même état.

8^e jour : voile complet à 1/200.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200.000).

Le protoplasma a fixé le colorant et il est légèrement granuleux. Les filaments sont bien développés ; traités par l'orcanette, ils montrent de petites gouttelettes d'huile.

Vert malachite.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse en profondeur à 1/200.000.

5^e jour : même état.

8^e jour : voile à 1/200.000.

10^e jour : sporulation.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200.000) :

Le colorant est fixé sur le protoplasma, qui est légèrement rétracté ; traité par l'orceanette : petites gouttelettes d'huile.

Flavine.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/10.000

5^e jour : à 1/10.000 éléments à la surface.

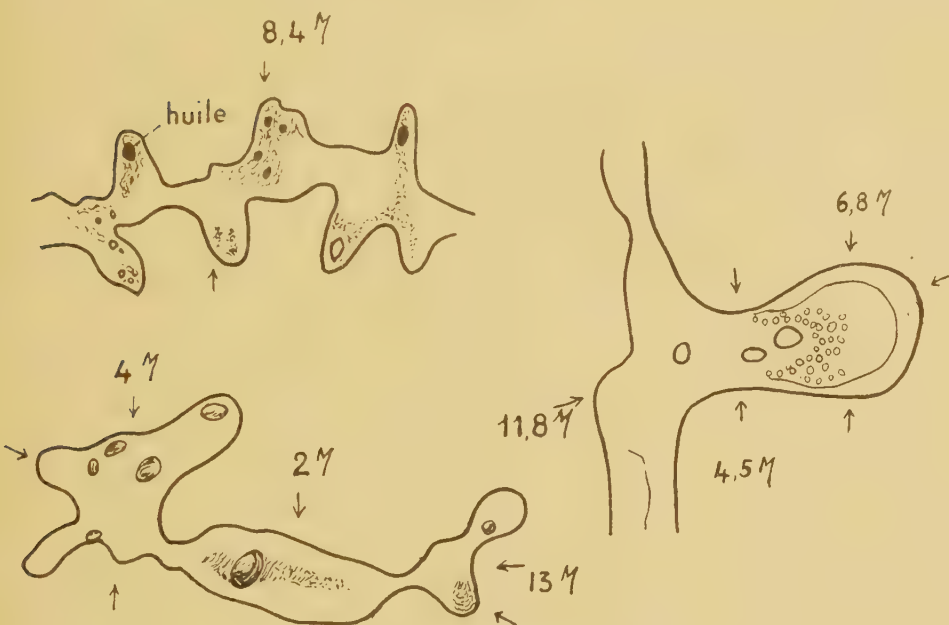


FIG. 19. — Rhizom. septatus Flavine.
Concentr. 1/10.000.

7^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Quelques hyphes sont extrêmement malingres, d'autres sont gonflées et déformées.

Le protoplasma est uniformément jaune. Les granulations au lieu d'être uniformément réparties dans le pro-

toplasma sont groupés en amas, principalement aux points de ramification. Les globules gras sont nombreux, habituellement petits et fortement colorés en jaune-orangé.

Voir figure n° 19.

Thioflavine

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse à 1/5.000 ; dès 1/50.000 voile.

4^e jour : à 1/20.000 voile.

8^e jour : sporulation.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration de 1/5.000) :

Filaments presque normaux ; la thioflavine est beaucoup moins toxique pour la cellule que les colorants précédents, les déformations étant toujours très minimes.

Violet cristallisé.

Ensemencé le 5 janvier.

3^e jour : pousse à 1/200.000 au fond.

5^e jour : pousse faiblement à 1/50.000 dans le fond ; à 1/200.000 voile.

10^e jour : à 1/50.000 abondante fructification dans le fond du tube.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Filaments assez gonflés et protoplasma granuleux.

Exo-septoplix.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse au fond à 1/1.000. A 1/20.000 colonies à la surface ; à 1/50.000 voile.

5^e jour : voile à 1/20.000.

8^e jour : à 1/1.000 la fructification en profondeur est bien nette.

10^e jour : sporulation à 1/20.000. A 1/10.000 début de voile. A 1/5.000 quelques colonies à la surface.

10^e jour : examen microscopique (concentration à 1/1000) :

La plupart des filaments sont normaux, d'autres sont extrêmement gonflés. Le protoplasma est assez granuleux.

Vert de Janus.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : à 1/100.000 pousse au fond.

5^e jour : à 1/50.000 au fond. A 1/1'000.000 voile.

7^e jour : à 1/50.000 voile.

9^e jour : début de sporulation à 1/50.000.

18^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Filaments normaux, fortement colorés.

Brillantazurine.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/10.000 au fond.

4^e jour : pousse à 1/2.000. Voile à 1/10.000.

7^e jour : pousse à 1/1.000.

10^e jour : à 1/1.000 voile. A 1/5.000 léger début de sporulation.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Quelques filaments grêles qui ont fixé le colorant ; les éléments normaux ne l'ont pas fixé.

Dinitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse à 1/2.000 au fond. A 1/20.000 léger voile.

6^e jour : à 1/20.000 voile net.

7^e jour : à 1/20.000 début de sporulation.

10^e jour : voile à 1/2.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :

Rien d'anormal.

Ortho-nitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse bien dans le fond à 1/10.000. A 1/20.000 léger voile.

6^e jour : voile à 1/10.000.

8^e jour : à 1/5.000 fructification au fond.

10^e jour : à 1/5.000 la fructification est assez bonne.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Le protoplasma est granuleux et le colorant est bien fixé sur lui, il y a très peu de filaments chétifs.

Trinitro-phénol.

Ensemencé le 1^{er} février.

3^e jour : pousse très bien à 1/1.000.

5^e jour : début de sporulation.

8^e jour : sporulation normale.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Rien d'anormal.

Bleu méthylargyre.

Ensemencé le 2 mars :

3^e jour : à 1/100.000 pousse au fond. A 1/200.000 voile.

5^e jour : pousse à 1/50.000. A 1/100.000 voile.

10^e jour : voile à 1/50.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Les filaments sont gonflés, le colorant est fixé sur le protoplasma ; celui-ci est granuleux. Après traitement par l'orcanette on y trouve des gouttelettes d'huile.

Bleu de toluidine.

Ensemencé le 7 mars.

3^e jour : pousse dans tous les tubes à partir de 1/1.000. A 1/10.000 voile.



Fig. 20. — Rhizom. sept. Bleu de toluidine.
Concentr. 1/1.000.

5^e jour : à 1/1.000 voile.

8^e jour : début de sporulation.

10^e jour : sporulation normale.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Les éléments sont gonflés ; le protoplasma est rétracté et le colorant est bien fixé sur lui. Avec l'orcanette on trouve de petites gouttelettes d'huile.

Voir figure n° 20.

Bleu Nil sulfate.

Ensemencé le 7 mars.

3^e jour : pousse à 1/5.000 au fond. A 1/20.000 voile.

4^e jour : à 1/2.000 pousse au fond. A 1/5.000 voile.

7^e jour : début de sporulation à 1/5.000.

9^e jour : colonies à la surface à 1/2.000.

10^e jour : à 1/2.000 voile.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :

Le colorant est fixé sur le protoplasma, celui-ci est granuleux et rétracté.

Les filaments sont légèrement gonflés ; traités par l'orcanette, ils laissent voir de petites gouttes d'huile.

Violet Dahlia.

Ensemencé le 3 avril.

3^e jour : pousse au fond à 1/20.000. A 1/100.000, léger voile.

6^e jour : voile à 1/20.000. Pousse au fond à 1/5.000.

8^e jour : à 1/10.000, léger voile. A 1/20.000, début de sporulation.

12^e jour : à 1/10.000, sporulation tardive.

14^e jour : à 1/5.000, la fructification est exactement égale à celle du 6^e jour et à la même concentration.

15^e jour : examen microscopique (concentrations 1/5.000-1/10.000) :

A 1/5.000, filaments très grêles.

A 1/10.000, filaments grêles, divergents, qui partent du sporange, mais ne sont pas terminés par nouveaux sporanges.

Prontosil.

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : à 1/10.000, a poussé faiblement dans la partie supérieure du milieu en forme grumeleuse.

A 1/20.000, a bien poussé, mais le 1/3 inférieur de la culture est grumeleux.

5^e jour : à 1/10.000, a assez bien poussé. A 1/50.000, début de sporulation.

7^e jour : à 1/10.000, le 1/3 supérieur est déjà filamenteux.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :
Filaments sinueux.

Pyronine.

Ensemencé le 14 mai.

3^e jour : pousse très bien dans tous les milieux.

5^e jour : début de sporulation à 1/20.000.

7^e jour : sporulation bien définie.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

A cette concentration, le *Rhizomucor* présente une dé-

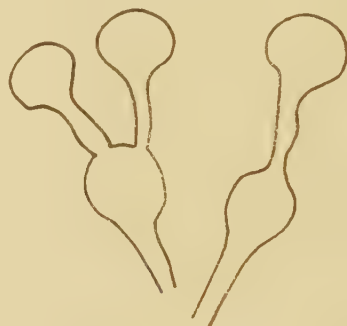


Fig. 21. — Rhizom. sept. Pyronine.
Concentr. 1/5.000

formation importante de son appareil sporangial sur laquelle nous reviendrons plus loin. Elle consiste dans une prolifération des sporanges qui donnent naissance à leur sommet, et latéralement à des filaments divergents terminés par de nouveaux sporanges.

Voir figure n° 21.

Jaune d'acridine.

Ensemencé le 11 mai.

2^e jour : à 1/20.000, pousse bien dans les 2/3 supérieurs du milieu ; dans le 1/3 inférieur, la colonie est humide et grumeleuse,

5^e jour : à 1/20.000, toute la colonie est filamenteuse. A 1/10.000, le Champignon a poussé dans le tiers supérieur. A 1/50.000, début de sporulation.

7^e jour : à 1/10.000, le 1/3 supérieur est filamenteux et les 2/3 inférieurs sont humides et grumeleux ; retard de sporulation. A 1/20.000, sporulation complète.

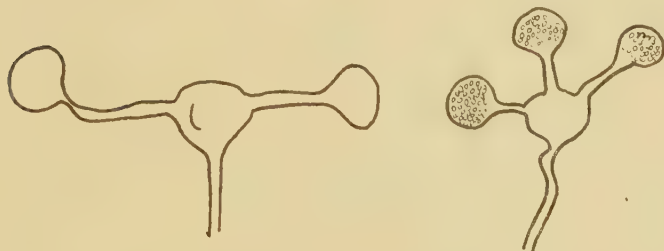


FIG. 22. — *Rhizomucor septatus*. Jaune d'acridine.
Concentr. 1/20.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Nous avons observé une déformation de l'appareil sporangial analogue à celle obtenue avec les milieux à base de pyronine et que nous décrirons ultérieurement. Jusqu'à maintenant pas de sporulation.

Voir figure n° 22.

Bleu de toluidine-éosine.

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse très facilement à 1/10.000, dans la partie supérieure du milieu. A 1/20.000, dans le tiers supérieur en forme filamenteuse et dans les autres 2/3 inférieurs la colonie est grumeleuse. Les éléments qui sont en contact avec le milieu ont bien pris le colorant.

5^e jour : à 1/10.000, la colonie est un peu plus étendue, opaque, sans filaments libres. On observe une précipitation du colorant.

7^e jour : sporulation à 1/20.000. A 1/10.000, le 1/3 supérieur est filamenteux ; pH du milieu = 5,8.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

A 1/20.000, on remarque, quoique moins accentuée, la

même déformation de l'appareil sporangial observée avec la pyronine et le jaune d'acridine.

Voir figure n° 23.

Il y a encore lieu de noter un phénomène d'oxydo-réduction comportant d'abord le passage du bleu à son



Fig. 23. — *Rhizomucor septatus*. Bleu de toluidine-eosine.
Concentr. 1 20.000

leuco-dérivé avec décoloration du milieu, suivie d'une réoxydation se manifestant au contact de la culture et provoquant la réapparition de la coloration bleue.

Trypan bleu.

Ensemencé le 2 mars.

3^e jour : pousse très bien dès 1/1.000, avec léger voile.

5^e jour : à 1/1.000, voile net ; début de sporulation.

8^e jour : à 1/1.000, sporulation nette.

10^e jour : même état. A la loupe, on constate que certains filaments ont pris une coloration bleuâtre et d'autres une coloration brunâtre ; pH = 6,6.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Ici encore, et à la concentration de 1/1.000, on retrouve une prolifération des sporanges qui donnent naissance latéralement à un, deux ou trois filaments divergents, terminés chacun par un nouveau sporange.

Mais, ce qui n'avait pas été observé dans le cas des autres antiseptiques précédemment étudiés, certaines de ces ramifications prennent naissance non seulement sur la partie fertile du sporange, mais aussi dans sa région basilaire correspondant à la columelle.

Voir figures nos 24 et 25.

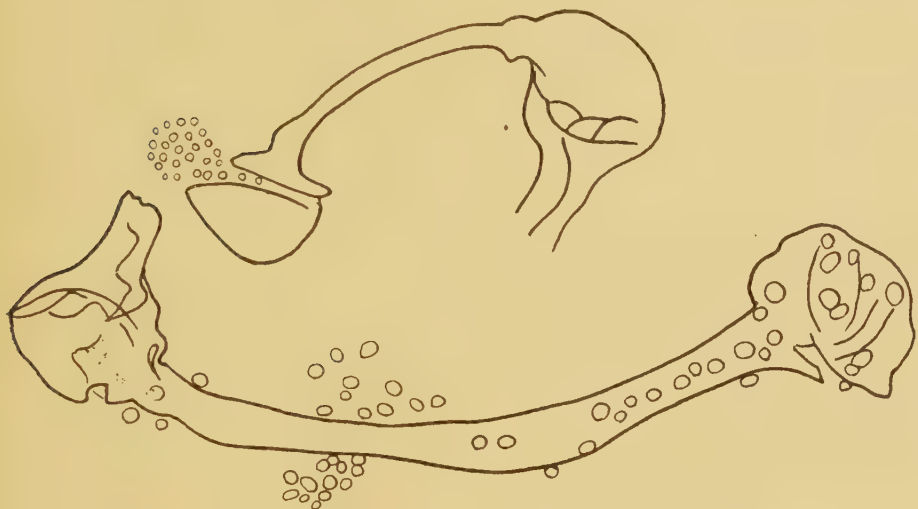


FIG. 24. — Rhizom. sept. Trypan bleu.
Concentr. 1/1.000.

Jaune de Martius.

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : à 1/20.000, le Champignon a poussé dans la moitié supérieure de la culture.

5^e jour : à 1/20.000, meilleur développement de la colonie.

7^e jour : début de sporulation à 1/20.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Nous avons trouvé la même déformation de l'appareil sporangifère qu'avec les colorants : pyronine, jaune d'acridine, bleu de toluidine-éosine et trypan bleu, c'est-à-dire des ramifications latérales divergentes terminées par un nouveau sporange.

Voir figure n° 26.

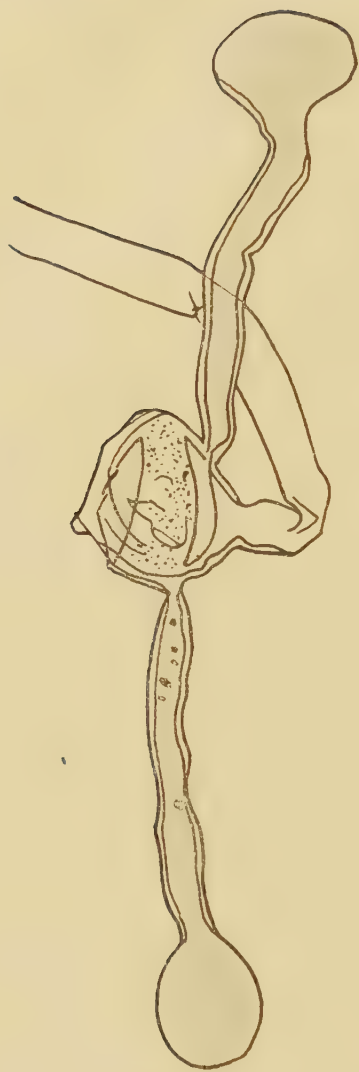


FIG. 25. — *Rhizom. sept.*, Trypan bleu.
(Concentr. 1/1,000).



FIG. 26. — *Rhizomucor septatus*, Jaune de Martius.
(Concentration 1/20,000).

RÉSUMÉ

Concentration maxima auxquelles a poussé le *Rhizomucor septatus*.

- 1 : 200 : Dinitro-naphtol sulfoacide, jaune naphtol.
 - 1 : 1.000 : Mercurio-chrome, exo-septoplix, brillantazurine, trinitro-phénol, trypan bleu, bleu de toluidine.
 - 1 : 2.000 : Auramine 00, mercure-érythrosine, dinitro-phénol, bleu Nil sulfate. .
 - 1 : 5.000 : Dinitro-crésol, flavine, thioflavine, orthonitro-phénol, violet Dahlia, pyronine.
 - 1 : 10.000 : Prontosil.
 - 1 : 20.000 : Bleu de toluidine-éosine, jaune d'acridine, jaune de Martius.
 - 1 : 50.000 : Gonacrine, rivanol, violet cristallisé, vert de Janus, bleu méthylargyre.
 - 1 : 200.000 : Vert brillant, vert malachite.
-

CRYPTOCOCCUS LUDWIGII

Mercurio-chrome.

Ensemencé le 12 juillet.

4^e jour : pousse faiblement à 1/500.000.

6^e jour : pousse à 1/100.000.

7^e jour : pousse à 1/50.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : même état.

11^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Les éléments sont un peu petits, ayant fixé seulement un peu le colorant.

10 novembre : (concentration 1/10.000).

Il y a quelques éléments arrondis ; leur protoplasma est rétracté ; d'autres, bien développés, présentent, au centre et dans une des extrémités, deux ou trois condensations protoplasmiques nucléées.

Septembre 2/40 : (concentration 1/2.000).

Les condensations protoplasmiques nucléées sont entourées d'une zone hyaline. Une coloration à l'hématoxyline laisse cette zone incolore, alors que les noyaux et le protoplasma sont colorés normalement. Il y a donc lieu de penser qu'il s'agit d'une sporulation.

Gonacrine.

Ensemencé le 30 septembre.

3^e jour : pousse à 1/200.000.

4^e jour : pousse faiblement à 1/50.000.

6^e jour : mieux développé à 1/50.000.

7^e jour : pousse faiblement à 1/20.000.

8^e jour : mieux développé à 1/20.000.

10^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

25 octobre : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Les éléments sont très petits et très peu nombreux.

A 1/20.000, les éléments sont presque tous normaux

(quelques-uns présentent trois et quatre noyaux) ; il s'agit vraisemblablement d'une sporulation de la levure.

Rivanol.

Ensemencé le 26 septembre.

4^e jour : pousse à 1/200.000.

5^e jour : même état.

6^e jour : même état.

12^e jour : pousse à 1/100.000.

25 octobre : examen microscopique (concentration 1/100.000) :

Les éléments sont très rares, sans noyau visible.

A 1/200.000, il y a quelques éléments arrondis et manifestant une légère tendance à l'association en colonies ; ils sont nucléés.

Dinitro-crésol (Jaune Victoria).

Ensemencé le 11 octobre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

5^e jour : bien poussé à 1/5.000.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration à 1/5.000) :

Rien d'anormal.

Dinitro-naphtol (sulfo-acide).

Ensemencé le 4 octobre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/200.

5^e jour : bien poussé à 1/200.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200) :

Très peu d'éléments présentent une forme allongée. Quelques-uns ont deux ou trois noyaux, d'autres présentent une condensation du protoplasma vers le centre ; dans quelques autres le noyau n'est pas visible directement. Légère tendance à l'association en colonies.

Jaune naphtol.

Ensemencé le 14 octobre.

2^e jour : pousse dans toutes les solutions.

5^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200) :

Peu de modifications morphologiques dans l'ensemble.

Auramine 00.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

5^e jour : même état.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Le protoplasma est légèrement granuleux ; il y a tendance à l'allongement des éléments, de même qu'à l'association des levures.

Mercure-érythrosine.

Ensemencé le 14 octobre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/5.000

5^e jour : même état.

10^e jour : même état.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Le protoplasma est légèrement granuleux ; il y a des éléments arrondis, mais la plupart ont tendance à l'allongement.

Vert brillant.

Ensemencé le 9 décembre,

4^e jour : pousse faiblement à 1/1'000.000.

5^e jour : bien poussé à 1/1'000.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1'000.000) :

Peu de modifications morphologiques dans l'ensemble.

Vert malachite.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/200.000.

5^e jour : bien poussé.

8^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/200.000) :

Peu de modifications morphologiques dans l'ensemble.

Flavine.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/50.000.

5^e jour : bien poussé à 1/50.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Pas de modifications morphologiques.

Thioflavine.

Ensemencé le 9 décembre.

3^e jour : pousse faiblement à 1/100.000.

5^e jour : bien poussé à 1/100.000.

8^e jour : pousse faiblement à 1/50.000.

10^e jour : bien poussé à 1/50.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/50.000) :

Rien d'anormal.

Violet cristallisé.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse seulement dans le témoin.

6^e jour : même état.

11^e jour : pousse faiblement à 1/1'000.000.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/1'000.000) :

Eléments normaux.

Exo-septoplax.

Ensemencé le 5 janvier.

4^e jour : pousse à 1/20.000.

5^e jour : pousse à 1/10.000.

7^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

10^e jour : pousse à 1/1.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Le protoplasma est granuleux ; les éléments sont longs, avec deux ou trois points réfrigérants (noyaux) et avec tendance à l'association en colonnes.

Vert de Janus.

Ensemencé le 23 janvier.

2^e jour : pousse faiblement à 1/50.000.

5^e jour : même état.

6^e jour : même état.

7^e jour : pousse faiblement à 1/20.000

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Les éléments sont arrondis et un peu plus petits que normalement.

Brillantazurine.

Ensemencé le 23 janvier.

3^e jour : pousse à 1/2.000

5^e jour : pousse très faiblement à 1/1.000.

6^e jour : bien poussé à 1/1.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Eléments normaux.

Dinitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse très faiblement à 1/5.000.

5^e jour : même état.

8^e jour : bien poussé à 1/5.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Eléments bien développés, quelques-uns arrondis ; le protoplasma légèrement granuleux.

Ortho-nitro-phénol.

Ensemencé le 6 février.

3^e jour : pousse très faiblement à 1/10.000.

5^e jour : même état.

7^e jour : même état.

10^e jour : même état.

14^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

14^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Rien d'anormal.

Trinitro-phénol.

Ensemencé le 1^{er} février.

3^e jour : pousse faiblement à 1/1.000.

5^e jour : bien poussé à 1/1.000.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000)

Rien d'anormal.

Bleu méthylargyre.

Ensemencé le 2 mars.

3^e jour : pousse à 1/50.000.

5^e jour : pousse à 1/20.000.

7^e jour : même état.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Rien d'anormal.

21^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000).

Les éléments ont fixé nettement le colorant, presque tous ont deux noyaux ; ceux-ci sont réfringents ; pas de modifications morphologiques dans l'ensemble ; il y a tendance à une association en colonies semblables à celles des levures.

Trypan bleu.

Ensemencé le 2 mars.

3^e jour : pousse à 1/5.000.

5^e jour : pousse à 1/1.000.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/1.000) :

Eléments peu abondants et petits.

A 1/2.000 : éléments bien développés ; leurs extrémités sont bien colorées ; quelques-uns ont présenté deux points réfringents (noyaux), les modifications morphologiques sont de deux ordres : il y a des éléments longs et d'autres arrondis.

Bleu de toluidine.

Ensemencé le 7 mars.

3^e jour : pousse à 1/50.000.

5^e jour : pousse à 1/5.000.

8^e jour : même état.

9^e jour : pousse faiblement à 1/2.000.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :

Les éléments présentent deux noyaux ; le protoplasma est bien coloré et il apparaît condensé.

Bleu Nil sulfate.

Ensemencé le 7 mars.

3^e jour : pousse à 1/20.000.

4^e jour : pousse à 1/5.000.

7^e jour : même état.

10^e jour : même état.

12^e jour : pousse à 1/2.000.

15^e jour : examen microscopique (concentration 1/2.000) :

Le protoplasma est rétracté et coloré.

Violet Dahlia.

Ensemencé le 1^{er} avril.

3^e jour : pousse à 1/100.000.

5^e jour : pousse faiblement à 1/50.000.

8^e jour : même état.

10^e jour : bien poussé à 1/50.000.

10^e jour : examen microscopique (concentration à 1/50.000) :

Rien d'anormal.

Bleu de toluidine-éosine (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse à 1/10.000 faiblement.

5^e jour : à 1/20.000, la coloration de la colonie est rose foncé.

7^e jour : à 1/10.000, la coloration de la colonie est la même que celle du milieu.

A partir de 1/20.000, coloration rouge-violacé.

10^e jour : même état.

12^e jour : même état.

13^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Les éléments sont bien colorés et les noyaux sont réfringents ; quelques cellules présentent deux ou trois noyaux.

(Le bleu de toluidine-éosine, en milieu acide, laisse précipiter l'éosine, tandis que le colorant bleu reste dissous).

Jaune d'acridine (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

5^e jour : même état.

7^e jour : à 1/10.000, la colonie est jaune ; à partir de 1/20.000, elle est rouge-jaunâtre et a bien poussé.

10^e jour : même état.

12^e jour : pousse faiblement à 1/5.000.

13^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

Allongement général des éléments, quelques-uns cependant restent arrondis ; le protoplasma est granuleux et le noyau réfringent. Il y a une tendance à un étranglement des cellules vers leur milieu.

A 1/10.000, les éléments sont normaux.

Pyronine (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse dans tous les tubes.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/5.000) :

La dimension des éléments est normale ; les condensations protoplasmiques nucléées sont colorées, réfringentes, et sont au nombre de deux, trois et quatre. Une coloration avec l'hématoxyline laisse voir les mêmes particularités que nous avons trouvées avec le mercuro-chrome.

Jaune de Martius (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse bien à 1/50.000.

5^e jour : pousse faiblement à 1/20.000 dans le 1/3 supérieur du milieu ; à 1/50.000, la coloration de la colonie est rouge-jaunâtre.

7^e jour : à 1/20.000, la colonie est jaune.

10^e jour : même état.

12^e jour : examen microscopique (concentration 1/20.000) :

Les éléments sont un peu allongés ; ils ont bien fixé le colorant, surtout sur le noyau ; quelques-uns ont leur protoplasma légèrement granuleux ; ils présentent la forme de chapelets de 6 à 10 éléments en série, avec des ramifications latérales.

Prontosil rubrum (milieu solide).

Ensemencé le 11 mai.

3^e jour : pousse faiblement à 1/10.000.

5^e jour : même état.

7^e jour : à 1/20.000, la colonie est rouge-brunâtre.

10^e jour : même état.

10^e jour : examen microscopique (concentration 1/10.000) :

Le noyau est coloré et le protoplasma légèrement granuleux.

RÉSUMÉ

Concentrations maxima auxquelles a poussé le *Cryptococcus Ludwigii*.

1 : 200	: Dinitro-naphtol sulfoacide, jaune naphtol.
1 : 1.000	: Exo-septoplix, brillantazurine, trinitro-phénol, trypan bleu, pyronine.
1 : 2.000	: Bleu de toluidine, bleu Nil sulfate, mercuro-chrome.
1 : 5.000	: Jaune Victoria, Auramine 00, mercure-érythrosine, dinitro-phénol, orthonitro-phénol, jaune d'acridine, bleu méthylargyre.
1 : 10.000	: Gonacrine, bleu de toluidine-éosine, prontosil.
1 : 20.000	: Vert de Janus, jaune de Martius.
1 : 50.000	: Flavine, thioflavine, violet Dahlia.
1 : 100.000	: Rivanol.
1 : 200.000	: Vert malachite.
1 : 1'000.000	: Vert brillant, violet cristallisé.

Pour une claire interprétation des résultats qui viennent d'être exposés, nous réunirons dans le tableau ci-après les doses limites permettant le développement des microorganismes étudiés.

Limite de Développement.

Antiseptiques	Coli	Mycoïd	Staphyl.	Asperg.	Crypt.	Penicill.	Rhizom.
Dinitronaphтол.....	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200
Jaune naphтол.....	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200
Exo-septoplх.....	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 2,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000
Brillantazurine.....	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000
Trinitrophénol.....	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000
Trypan bleu.....	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000
Orthonitrophénol....	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 10,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 5,000
Bleu de toluidine.....	1 : 20,000	1 : 200,000	1 : 200,000	1 : 1,000	1 : 2,000	1 : 1,000	1 : 1,000
Bleu Nil sulfate.....	1 : 1,000	1 : 100,000	1 : 50,000	1 : 1,000	1 : 2,000	1 : 1,000	1 : 2,000
Péronine.....	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 1,000	1 : 5,000	1 : 5,000
Flavine.....	1 : 1,000	1 : 500,000	1 : 500,000	1 : 50,000	1 : 50,000	1 : 10,000	1 : 5,000
Thiollavine.....	1 : 1,000	1 : 1,000	1 : 100,000	1 : 20,000	1 : 30,000	1 : 5,000	1 : 5,000
Mercurio-chrome.....	1 : 20,000	1 : 50,000	1 : 20,000	1 : 5,000	1 : 2,000	1 : 2,000	1 : 1,000
Dinitro-crésol.....	1 : 2,000	1 : 2,000	1 : 2,000	1 : 2,000	1 : 5,000	1 : 2,000	1 : 5,000
Dinitro-phénol.....	1 : 2,000	1 : 2,000	1 : 2,000	1 : 2,000	1 : 5,000	1 : 2,000	1 : 2,000
Auramine 00.....	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 2,000	1 : 10,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 2,000
Mercuré érythroline.	1 : 20,000	1 : 20,000	1 : 50,000	1 : 10,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 2,000
Gonacrine.....	1 : 20,000	1 : 100,000	1 : 20,000	1 : 5,000	1 : 10,000	1 : 2,000	1 : 50,000
Vert de Janus.....	1 : 5,000	1 : 100,000	1 : 100,000	1 : 200,000	1 : 20,000	1 : 10,000	1 : 50,000
Bleu toluidine-éosine.	1 : 10,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 10,000	1 : 5,000	1 : 20,000
Jaune d'acridine.....	1 : 10,000	1 : 10,000	1 : 20,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 10,000	1 : 20,000
Bleu méthylargyre....	1 : 50,000	1 : 200,000	1 : 100,000	1 : 10,000	1 : 5,000	1 : 5,000	1 : 50,000
Violet Dahlia.....	1 : 100,000	1 : 50,000	1 : 20,000	1 : 200,000	1 : 50,000	1 : 50,000	1 : 5,000
Prontosil.....	1 : 20,000	1 : 20,000	1 : 100,000	1 : 10,000	1 : 10,000	1 : 5,000	1 : 10,000
Jaune de Martins.....	1 : 20,000	1 : 500,000	1 : 50,000	1 : 20,000	1 : 20,000	1 : 20,000	1 : 20,000
Rivanol.....	1 : 20,000	1 : 50,000	1 : 20,000	1 : 1,000,000	1 : 100,000	1 : 50,000	1 : 50,000
Vert malachite.....	1 : 20,000	1 : 50,000	1 : 20,000	1 : 1,000,000	1 : 200,000	1 : 200,000	1 : 200,000
Vert brillant.....	1 : 20,000	1 : 200,000	1 : 500,000	1 : 1,000,000	1 : 1,000,000	1 : 200,000	1 : 200,000
Violet cristallisé.....	1 : 200,000	1 : 200,000	1 : 200,000	—	1 : 1,000,000	1 : 500,000	1 : 50,000

Note : Le vert brillant, à toutes les concentrations, a empêché le développement du *Bacillus mycoides*. Le violet cristallisé a empêché le développement de l'*Aspergillus repens*.

Déformations de l'appareil sporangial du *Rhizomucor septatus* obtenues sur différents milieux.

Nous devons une mention particulière au développement du sporange du *Rhizomucor septatus* en présence de certains antiseptiques, et plus spécialement de la pyronine, du jaune d'acridine, du bleu de toluidine-éosine et du trypan bleu.

Prenons comme exemple le jaune d'acridine avec lequel les phénomènes ont présenté le maximum de complication.

A la concentration de 1/20.000, le développement du Champignon s'est effectué en apparence normalement. Les premiers sporanges se sont formés, bientôt suivis de nombreux autres; les spores s'y sont formées normalement, mais, bien avant leur complète maturation, de petits renflements sont apparus sur la paroi du sporange, tantôt deux, placés latéralement vers le 1/3 supérieur, tantôt trois, l'un au sommet, les autres sur les côtés.

Ces renflements se sont allongés et n'ont pas tardé à donner naissance, à leur extrémité, à de nouveaux sporanges, un peu plus petits que le sporange initial, mais en tout cas, normalement constitués et donnant naissance à leur tour à des spores normales.

A peu près semblable dans le cas de la pyronine et à la concentration de 1/5.000, cette prolifération des sporanges s'est cependant un peu atténuée, car elle ne comporte guère qu'une ou deux ramifications sporangifères issues d'un sporange primitif.

Elle l'est encore un peu plus avec le bleu de toluidine-éosine à 1/20.000, où elle donne naissance à un seul sporange secondaire, toujours plus petit que le sporange initial et prenant naissance tantôt au sommet, tantôt sur le côté de celui-ci. Le petit sporange, dont le diamètre est approximativement moitié moindre que celui du premier, donne d'ailleurs naissance à des spores d'apparence normale.

Parfois, toujours avec ce même antiseptique, la formation du sporange secondaire n'a pas lieu et la prolifération se borne à la production d'un filament stérile qui s'allonge alors beaucoup en se ramifiant, à la manière des hyphes du mycélium normal.

Dans les milieux additionnés de trypan bleu à 1/1.000, la prolifération des sporanges se produit de la même manière qu'en présence du jaune d'acridine, mais, ainsi que nous l'avons indiqué précédemment, certaines des ramifications se développent à la base même du premier sporange, dans sa partie correspondant à la columelle.

Comment interpréter ces proliférations ?

Dans leurs Mémoires sur les Mucorinées, Van Tieghem et Le Monnier ont donné une description détaillée de l'appareil sporangial du *Rhizomucor*, mais ils n'ont mentionné aucune disposition rappelant la ramification des sporanges qui vient d'être signalée.

Van Tieghem décrit bien chez le *Rhizopus circinans*, une formation anormale résultant de la cuticularisation de l'extrémité recourbée des stolons, des crampons et des tubes sporangifères, ainsi que de la columelle. Dans le reste de leur étendue, les stolons se détruisent, de sorte que les fructifications, désormais indépendantes les unes des autres, portent, à côté de leur crosse sporangifère, un tube arqué, brisé au sommet, qui n'est autre chose que l'extrémité recourbée et cuticularisée du stolon.

Cette formation part donc des stolons radiciformes où elle est jumelée avec le second sporangiophore. Elle est par

conséquent très distanté du sporange et ne ressemble en rien à la ramification que nous avons observée et qui part soit du sommet du sporange, soit latéralement, ou encore de sa base ou même de la columelle, en tout cas toujours du sporange lui-même.

Des considérations analogues pourraient s'appliquer à une ramification faussement verticillée signalée par le même auteur sur le *Mortierella biramosa*.

Nous sommes donc en présence de déformations pathologiques liées à la présence des antiseptiques, mais qui ne semblent pas encore avoir été décrites sous cette forme.

CONCLUSIONS

I. — Nous avons déterminé le pouvoir inhibiteur de 29 matières organiques dont 26 colorants, appartenant aux principaux groupes, sur 7 organismes inférieurs dont 3 Bactéries et 4 Champignons (voir tableau p. 109). Nous avons pu constater la grande efficacité de la plupart d'entre elles, en tant qu'antiseptiques, mais à des degrés très divers, puisque le vert brillant s'est montré actif vis-à-vis du *Bacillus mycoides* à la dose de $1/1'000.000$ et le violet cristallisé à la même dose pour l'*Aspergillus repens*, tandis que le dinitro-naphtol et le jaune de naphtol ne l'étaient qu'à $1/200$.

II. — Il n'y a pas de concordance absolue entre les pouvoirs inhibiteurs des divers colorants, ni même des groupes de colorants, selon qu'on s'adresse à tel ou tel Champignon, mais, dans l'ensemble, les seuils de nocivité sont assez homogènes pour un même produit.

III. — Les écarts sont beaucoup plus considérables en ce qui concerne les Bactéries. C'est ainsi, par exemple, que la limite de développement du Coli bacille et du Staphylocoque en présence de gonacrine est de $1/20.000$, alors qu'elle atteint $1/100.000$ avec le *Bacillus mycoides*. La fragilité des organismes bactériens est donc beaucoup plus variable que celle des Champignons, mais, là encore, il n'est pas possible d'établir de règle absolue et ce qui est vrai avec un colorant déterminé, ne l'est pas fatalement avec tous les autres.

IV. — Dans l'ensemble, les Bactéries se montrent un peu plus sensibles que les Champignons à l'action des colorants, mais, en raison de divergences assez nombreuses, il ne nous paraît pas possible de baser, avec certitude de succès, une méthode générale de purification des cultures, sur l'addition de tels antiseptiques. Mais la méthode reste néanmoins utilisable dans certains cas particuliers.

V. — Des déformations importantes du thalle ont été observées dans un assez grand nombre de cas. Elles consistent surtout dans une augmentation considérable du volume des filaments qui se renflent irrégulièrement, se couvrent de nodosités et se crispent plus ou moins sur eux-mêmes. Leur protoplasma est le siège de fréquentes condensations et devient souvent fortement granuleux.

Fréquentes avec le *Rhizomucor septatus* (gonacrine à 1/100.000, rivanol, bleu de méthylargyre et violet cristallisé à 1/50.000, mercure-érythrosine à 1/5.000, exoseptoplix à 1/1.000, bleu Nil sulfate à 1/2.000), ces déformations s'observent encore intensément avec l'*Aspergillus repens* en présence de dinitrophénol à 1/2.000.

Souvent les déformations s'observent dans l'appareil reproducteur. Elles consistent :

1^o dans une tendance à l'allongement des phialides : *Aspergillus repens* avec le rivanol à 1/20.000, le vert Janus et le violet Dahlia à 1/200.000, le bleu de méthylargyre et la pyronine à 1/5.000, le trypan bleu, le bleu de toluidine et le bleu Nil sulfate à 1/1.000, le prontosil à 1/10.000 ;

Penicillium luteum avec le jaune de naphтол à 1/200, la gonacrine à 1/20.000, le dinitro-crésol (jaune Victoria) à 1/2.000 et le bleu de toluidine à 1/1.000.

2^o dans l'apparition de phialides secondaires : *Penicillium* dans le bleu de toluidine à 1/1.000 ;

3^o dans la disparition totale des phialides, les conidies naissant directement sur les conidiophores : *Aspergillus* en présence de jaune d'acridine à 1/5.000 ;

4° dans une réduction plus ou moins accentuée du nombre des éléments fructifères : *Rhizomucor septatus* dans le dininonaphthol sulfoacide à 1/200 et dans le rivanol à 1/50.000. Cette réduction peut même aller jusqu'à l'absence complète de sporulation : *Aspergillus repens* dans le jaune de Martius à 1/10.000, *Penicillium* dans le jaune Victoria à 1/2.000 ;

5° Dans l'apparition de formes régressives du conidio-phore : *Aspergillus* en présence de mercuro-chrome à 1/5.000 ;

6° Dans le retard de la sporulation : *Aspergillus* dans le prontosil à 1/10.000 ;

7° Dans la production fréquente de kystes (*Penicillium* dans l'auramine 00 à 1/5.000) ou de chlamydospores ;

8° Dans une tendance manifeste à la sporulation : *Cryptococcus Ludwigi* dans le mercuro-chrome à 1/2.000 et la pyronine à 1/1.000. Cette tendance s'accompagne d'un allongement fréquent des cellules et leur association en filaments ;

9° Enfin nous avons accordé une mention toute particulière à une prolifération apicale ou latérale, non encore signalée, des sporanges du *Rhizomucor*, lesquels donnent naissance à des filaments de calibre normal et assez courts, nés au sommet ou sur les côtés de la région fertile du sporange ou sur la base de la columelle, filaments qui se terminent à leur tour par un sporange normal et sporulant normalement (trypan bleu à 1/1.000, pyronine à 1/5.000, jaune d'acridine et bleu de toluidine-éosine à 1/20.000).

VI. — Nous avons noté l'apparition fréquente de gouttes d'huile au sein des filaments des Champignons cultivés au contact de beaucoup d'antiseptiques.

Particulièrement nombreuses et confluentes en masses importantes dans le *Rhizomucor* en présence de rivanol à 1/50.000 et de flavine à 1/5.000 et dans le *Penicillium* en présence de mercuro-chrome à 1/5.000, les gouttes d'huile diminuent en nombre et en volume dans le *Rhizomucor*

avec le bleu de méthylargyre à 1/5.000 et le bleu Nil sulfate à 1/2.000, dans le *Penicillium* avec le prontosil à 1/5.000 et dans l'*Aspergillus* avec le jaune Victoria à 1/200 et le violet Dahlia à 1/200.000, tout en restant encore assez abondantes.

Elles sont rares et petites dans le *Rhizomucor* en présence de vert brillant et de vert malachite à 1/200.000 et de bleu de toluidine à 1/1.000; dans le *Penicillium* en présence de vert brillant à 1/200.000; de thioflavine à 1/5.000, de vert de Janus à 1/10.000 et de trinitrophénol à 1/1.000; enfin dans l'*Aspergillus* en présence de thioflavine à 1/20.000, d'auramine 00 à 1/10.000, de flavine à 1/50.000, d'orthonitrophénol à 1/10.000, de pyronine à 1/5.000 et de bleu de toluidine-éosine à 1/5000.

VII. — Les phénomènes d'oxydo-réduction sont assez fréquents et se traduisent par la décoloration de certains milieux : *Aspergillus repens* avec le bleu de toluidine à 1/1.000 et le bleu de toluidine-éosine à 1/10.000, *Penicillium luteum*, *Rhizomucor septatus* et *Cryptococcus Ludwigii* avec le bleu de toluidine-éosine à diverses concentrations.

Vu : Le Président du Jury,

L. LUTZ.

Vu : Le Doyen,

Paris, le 14 octobre 1940.

A. DAMIENS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

- ACANFORI (G.). — Sulla chemioterapia delle micosi. Influenza di alcune sostanze coloranti sullo sviluppo di un gruppo di miceti del genere *Blastomicoides*. *Giorn. Batt. et Imm.*, XIV, 1933, p. 333.
- BASHFORD, HARTLEY et MORRISON. — A study of fifty cases treated by Flavine. *Brit. Med. Journ.*, 1917, p. 849.
- BERNY. — Un séjour de 24 heures « *in vitro* » dans le Bleu de méthylène à 0,5 % n'atténue pas la virulence du Bacille de Stéfansky. *Bull. Soc. Path. exot.*, XXVIII, 1935, p. 58.
- BERTRAND (Gab.) et ROSENBLAT (Mme). — La chloropicrine agit-elle sur les ferments solubles ? *C. R. Ac. des Sc.*, CLXXI, 1920, 2, p. 137.
- Action de la Chloropicrine sur la levure et sur la fleur du vin. *C. R. Acad. des Sc.*, CLXX, 1920, 1, p. 1350.
- Action de la chloropicrine sur quelques fermentations bactériennes. *C. R. A. des Sc.*, CLXX, 1920, 1, 1468.
- BOND. — Acriflavine paste as a dressing for infected Wounds. *Brit. Med. Journ.*, 1917, p. 6.
- BONNET (R.) et JACQUOT (R.). — Influence des anti-oxygènes, du Bleu de méthylène et du di-nitro-phénol, sur la croissance, la composition et le rendement énergétique du *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Acad. des Sc.*, CIC, 1934, 2, p. 1334.
- BONDRU. — Quelques notes sur la biologie du *Ceratostomella Ulmi* (Schwarz) Buisman, agent de la Thylose parasitaire de l'Orme. *Bull. Inst. agron. Gembloux*, II, 4, 1933, p. 310.
- BRIDÉ. — Sur le pouvoir antiseptique (antigénétique) de quelques couleurs d'aniline. *C. R. Soc. Biol.*, LXXXV, 1921, p. 645.
- BROWNING, GULBRANSEN, KENNAWAY et THORNTON. — Flavine and Brilliant green, Powerful antiseptics with low toxicity to the tissues. *Brit. Med. Journ.*, 1917, p. 73.
- BROWNING, GULBRANSEN et THORNTON. — The antiseptic Properties of Acriflavine and Proflavine and Brilliant Green. *Brit. Med. Jour.*, 1917, p. 70.
- BROWNING et LIGAT. — The use of Flavine antiseptics in Wounds. *The Lancet*, CXCI, 1917, p. 766.
- BURGERS. — Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Prontosilwirkung. *Deuts. med. Wochenschr.*, 1938, p. 598.

- BURKE et SKINNER. — Resistance of Bacterial spores to the triphenylmethane dyes. *Journ. Exp. med.*, XLI, 1925, p. 471.
- BUTTLE, GROV et STEPHENSON. — Protection of mice against streptococcal and others infectious by p-aminobenzene sulfamide and related substances. *The Lancet*, I, 1936, p. 1286.
- CHOPRA et BASU. — Studies of the effect of antimalaria drugs upon the infectivity of patients to mosquitoes. Part III « Prontosil ». *Journ. Malar. Inst. of India*, 2, 1939, p. 153.
- COLEBROOK et HARE. — On the bactericidal action of mercurio-chrome. *Brit. Journ. Exp. Path.*, VIII, 1927, p. 109.
- COLEBROOK et KEENNY. — Treatment of human puerperal infection and of experimental infection in mice with prontosil. *The Lancet*, I, 1936, p. 1276.
- COLLEDGE, DRUMMOND (H.) et WORTHINGTON. — A report in the treatment of recently inflicted war wounds with « Proflavine ». *The Lancet*, CXCI, 1917, p. 676.
- DAKIN et DUNHAM. — The relative germicidal Efficiency of antiseptics of the chlorine Group and Acriflavine and others Dyes. *Brit. med. Journ.*, 1917, p. 641.
- DESSY (G.) — La chimiothérapie des mycoses, III partie : Mucoromycose. *Bol. della sez. ital. d. Soc. Int. microb.*, V, 1933, p. 95.
- DOMAGK. — Ein Beitrag zur chemotherapie der bakterieller Infektionen. *Deutsch. med. Wochenschr.*, LXI, 1935, p. 252.
- DRUMMOND et MAC NEC. — On the treatment of a series of recently inflicted war wounds with Flavine. *The Lancet*, CXCI, 1917, p. 640.
- EDMOND (M.). — Action thérapeutique d'un colorant azoïque dans les maladies infectieuses du cheval. *Bull. Acad. Vét. Fr.*, VIII, 1935, p. 450.
- EHRMANN (E.). — Traité des matières colorantes organiques et de leurs diverses applications. Paris, Dunod, 1922.
- EMERSON et ANDERSON. — Toxicity of certain proposed antileprosy dyes : fluorescein, eosin, erythrosin and others. *Intern. Journ. of Leprosy*, II, 1934, p. 3.
- ERLICH et BECHHOLD. — Biologische Spaltpilz Untersuchungen, 1886.
- FALCK. — Die Merulius Fäule des Bauholzes. *Möllers Hausschwamm Forschungen*, VI, Jena, 1912, p. 351.
- FRAENKEL. — *Zeitschr. f. Hygiene*, VI, p. 521.
- FLEMMING. — The Physiological and antiseptic action of Flavine. *The Lancet*, CXCI, 1917, p. 341.
- GAVAUDAN (P.). — Sur les colorations vitales diffuses de quelques Flagellés et les affinités chimiques du cytoplasme et de ses divers constituants. *C. R. Acad. des Sc.*, CXCVIII, 1934, 1, p. 848.
- GUILLIERMOND. — Sur le développement d'un *Saprolegnia* dans des milieux additionnés de colorants vitaux et la coloration du vacuome pendant la croissance. *C. R. Acad. des Sc.*, CLXXXIII, 1929, 1, p. 1621.
- HABS et ROEPER. — Chemotherapeutische Versuche mit « Prontosil » bei der epizootischen Streptokokken Lymphadenitis des Meerschweinchen. *Zeits. f. Oemmunitätsforsch.*, XCI, 1937, p. 360.

- HAMMERL. — *Hygienische Rundschau*, IX, n° 20.
- HOUBEN (J.). — *Fortschritte der Heilstoffchemie*, I, Leipzig, 1932, p. 149.
- JUNGEBLUT (C. W.). — Weber Testigungsversuche an Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der physikalisch-chemischen Veränderungen. *Zeitsch. f. Hyg.*, XCIX, 1923, p. 254.
- KLEE et RÖMER. — Prontosil bei Streptokokkenkrankungen. *Deutsch. med. Wochenschr.*, LXI, 1935, p. 253.
- KOCH et LÜBBERT. — *Mitteil. des Kaiserl. Gesundheitsamtes*, I, p. 234.
- KRANEVELD et RADEN DJAENOEDIN. — Onderzoek over de prophylactische en therapeutische van trypaflavine tegen septicaemia hemorrhagica. *Ned. Indis. Bladen voor Diergenesskunde*, LXVIII, 1936, fasc. 1.
- LEGGATE. — Bonney's blue solution in the treatment of Leprosy. *Leprosy Rev.*, V, 1934, fasc. 4.
- LEW (BENO). — Le Rivanol dans le traitement de la mastite à strepto- et staphylocoques. *Zverolék rozpr.*, 1937, p. 169.
- LEVADITI et VAISMAN. — Action curative du rubiazol et de quelques dérivés similaires dans la streptococcie expérimentale. *C. R. Soc. Biol.*, CXIX, 1935, p. 949.
- Action curative et préventive du chlorhydrate de 4-sulfamido-2-4 diaminoazobenzène dans l'infection streptococcique expérimentale. *C. R. Acad. Sc.*, CC, 1935, 1, p. 1694.
- LIGAT. — Flavine and Brilliant Green in the Treatment of infected Wounds. *Brit. med. Journ.*, 1917, p. 78.
- MALENKOVIC (B.). — *Die Holz Conservierung im Hochbaue*, Wien, 1907.
- MARCHOUX et CHORINE. — Action du Bleu de méthylène sur les lépromes « in vivo ». *Bull. Acad. Méd.*, CXIII, 1935, p. 10.
- MATRUCHOT et SÉE (P.). — Action de la chloropicrine sur des moisissures diverses. *C. R. Soc. Biol.*, LXXXIII, 1920, p. 170.
- MONTEL et TRUONG-VAN-QUE. — Le rouge neutre en injections intra-veineuses dans le traitement de la Lèpre. *Bull. Soc. Path. exot.*, XVII, 1934, p. 715.
- MUIR et CHATTERJI. — Trypan bleu in the treatment of leprous eye lesions. *Lep. in India*, VI, 1934, p. 9.
- NITTI et BOVET. — Recherches expérimentales sur les phénomènes allergiques provoqués par la sulfamidochrysoïdine. *Rev. Immun.*, II, 1936, p. 460.
- La chimiothérapie des infections microbiennes. *Rev. Immunol.*, II, 1935, p. 450.
- Action du prontosil sur des infections streptococciques de la souris provoquées par des streptocoques d'origine humaine. *C. R. Soc. Biol.*, CXIX, 1935, p. 1277.
- NIVEN. — Sulfanilamide (Prontosil) in the treatment of malaria. *Bull. Inst. med. Res. Feder. Maláý States*, 4, 1938.
- PALDROCK et POOMAN. — Die Trypan blau, quaddebreaktion bei Leprösen. *Intern. Journ. of Leprosy*, III, 1934, p. 271.
- PASTAC(I.). — Constitution des phénols et leur action anticryptogamique.

- C. R. XIII^e Congr. Ch. ind., p. 102.
- Règle de l'alternance des radicaux. *Rev. génér. Sc.*, XXXVI, 1925, p. 70; *Id. J. Ch. Ph.*, XXII, 1925, p. 264.
- Les colorants nitrés et leurs applications particulières. *Journ. lutte chim. contre les ennem. Agricult. Chimie et Industr.*, XXXVIII, n° 4 bis, octobre 1937.
- PAULET. — *Traité de la conservation des bois*. Paris, 1874.
- PLANTEFOL. — Sur la toxicité de divers phénols nitrés pour le *Sterigmato-cystis nigra*. *C. R. Acad. des Sc.*, CLXXIV, 1922, 1, p. 123.
- RISLER et PHILIBERT. — Rôle de la lumière dans certains phénomènes de chocs. *C. R. Soc. Biol.*, XCVI, 1926, p. 747.
- RYRIE. — The use of fluoresceine in Leprosy reaction. *Leprosy R.*, V, 1934, p. 12.
- SCHMITTUTZ. — Das Osmose — Imprägnierverfahren und seine theoretischen Grundlagen, *Dresden*, 1937.
- SCHRENS. — Chemotherapie des Erysipels und anderer Infectionen mit Prontosil. *Deutsch. med. Wochenschr.*, LXII, 1936, p. 253.
- SHORT, ARKLE et KINO. — Report on Wound treatment by Brilliant Green-Paste. *Brit. med. Journ.*, 1917, p. 506.
- THIEM. — *Zeit. Bakteriol.*, II, 1937, p. 96 et 221.
- THORPE. — *Dict. of Appl. Chemistry, Supp.* II, p. 697.
- TILLEY, MAC DONALD et SCHAFFER. — Germicidal efficiency of orthophényl-phénol against *Mycobacterium tuberculosis*. *Journ. Agric. Research*, XLII, 1931, p. 653.
- TRÉFOUEL, (J. et Mme), NITTI et BOVET. — Action du p.-aminophénylsulfamide sur les infections streptococciques expérimentales de la souris et du lapin. *C. R. Soc. Biol.*, CXX, 1935, p. 756.
- TRUFFAUT et PASTAC. — La chémothérapie des maladies des plantes par des colorants organiques. *C. R. Acad. des Sc.*, CLXXXIX, 1929, 2, p. 1013.
- TUGE. — Die Behandlung der Puerperalsepsis mit Prontosil. *Deutsch. med. Wochenschr.*, LXI, 1935, p. 1672.
- VELU, WEYLAND et SARTHOU. — Essai de chimiothérapie de la gourme par le novarsenobenzol et la gonacrine. *Bull. Acad. Vétér. Fr.*, IX, 1936, p. 158.
- VIOLLE. — Du pouvoir antiseptique de la chloropicrine. *C. R. Acad. des Sc.*, CLXXXII, 1926, 1, p. 290.
- WEBB. — A note on the value of Brilliant Green as an antiseptic. *Brit. Med. Journ.*, 1917, p. 870.
- WEYL. — Article *Jaune Victoria*. B, XX, 1887, p. 283. *Id.* XXI, 1881, p. 512 et 2191.
- WIESNER (B.). — Sur le pouvoir antiseptique du cristal violet *in vitro* et *in vivo*. *Soc. Roum. Biol.*, in *C. R. Soc. Biol.*, XCV, 1926, p. 418.

